

Aus dem Robert-Koch-Institut des Bundesgesundheitsamtes
Fachgebiet Klinische Parasitologie
Leiter: Direktor und Professor, Dr. H. Werner

Untersuchungen
zur serologischen Diagnose der
zystischen Echinokokkose des Menschen mittels
Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)
unter dem Aspekt der Eignung von gelösten
Echinokokkenlarven-Antigenen ausgewählter
Zwischenwirt-Endwirt-Zyklen
aus verschiedenen Teilen der Welt

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Florian Böhle
Tierarzt aus Berlin

Berlin 1985
Journal-Nr. 1265

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Fachbereichssprecher : Prof. Dr. F. Hörchner

Erster Gutachter : Prof. Dr. F. Hörchner

Zweiter Gutachter : Prof. Dr. G. Reuter

Tag der Promotion : 20. Dezember 1985

I N H A L T

Seite

<u>1.</u>	<u>Einleitung</u>	5
<u>2.</u>	<u>Literaturübersicht Echinococcus spp.</u>	6
2.1.	Geographische Verbreitung	6
2.2.	Stammunterschiede und deren epidemiologische Bedeutung	10
2.3.	Diagnose beim Tier	15
2.3.1.	Larvenstadien bei Haus- und Wildtieren	15
2.3.2.	Adulte und Eier bei Karnivoren	15
2.4.	Diagnose beim Menschen	17
2.4.1.	Klinisch-symptomatische Diagnose	17
2.4.2.	Nicht serologische Diagnoseverfahren	18
2.4.3.	Serologische Diagnostik	21
<u>3.</u>	<u>Aufgabenstellung</u>	36
<u>4.</u>	<u>Material und Methode</u>	37
4.1.	<u>Antigene</u>	37
4.1.1.	Nicht kommerzielle Echinokokken-Antigene	37
4.1.2.	Kommerzielle Echinokokken-Antigene	38
4.2.	<u>Seren</u>	38
4.2.1.	Seren von Patienten mit zystischer Echinokokkose	39
4.2.2.	Seren von Patienten mit anderen Helminthen-Infektionen	39
4.2.3.	Seren von Patienten mit Protozoen-Infektionen	40
4.2.4.	Seren von klinisch gesunden Personen	40
4.2.5.	Echinokokkose-Referenzserum des Bundesgesundheitsamtes (BGA)	40
4.3.	<u>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)</u>	42
<u>5.</u>	<u>Ergebnisse</u>	45

	<u>Seite</u>
<u>6. Diskussion</u>	48
<u>7. Zusammenfassung - Summary</u>	59
<u>8. Tabellen und Abbildungen</u>	61
<u>9. Abkürzungen</u>	82
<u>10. Literaturverzeichnis</u>	83

1. Einleitung

Die Echinokokkose ist die gefährlichste endemische Parasitose des Menschen in Europa. Sie wird hier durch zwei Arten der Gattung *Echinococcus*, durch den Kosmopoliten *Echinococcus granulosus* (E.g.), der die zystische Echinokokkose (zyst.E.) des Menschen verursacht und den regional begrenzt vorkommenden *Echinococcus multilocularis* (E.m.), der zur alveolären Echinokokkose (alv.E.) des Menschen führt, hervorgerufen.-

In der Bundesrepublik Deutschland und West Berlin hat diese Zoonose vor allem durch die hohe Zahl von ausländischen Arbeitnehmern besondere klinische und diagnostische Bedeutung erlangt.-

Da bei E.g. weltweit zahlreiche intraspezifische Varianten auftreten, kann dadurch möglicherweise die Aussagekraft serodiagnostischer Methoden beeinträchtigt werden. Dies ist auch für die Schaffung eines internationalen Referenzserums durch die Weltgesundheitsorganisation (WHO) in Zusammenarbeit mit dem Bundesgesundheitsamt (BGA) von Bedeutung.-

Zur Verdeutlichung der Aufgabenstellung wird zunächst eine Literaturübersicht hinsichtlich der geographischen Verbreitung, der Stammunterschiede und der Diagnostik des Parasiten gegeben.-

In dieser Arbeit werden der Einfachheit halber anstelle der eigentlich korrekten Benennungen "larvale *Echinococcus granulosus*-Infektion" sowie "larvale *Echinococcus multilocularis*-Infektion" die vom Council for International Organization of Medical Sciences (1974) als allein zu verwendende Begriffe vorgeschlagenen Bezeichnungen zystische Echinokokkose (zyst.E.) bzw. alveoläre Echinokokkose (alv.E.) für diese Infektionen des Menschen benutzt. Ferner soll durch die konsequente Anwendung dieser Trivialbezeichnungen das sonst im medizinischen Sprachgebrauch durch die Verwendung zahlreicher Synonyme herrschende nomenklatorische Durcheinander vermieden werden.-

2. Literaturübersicht Echinococcus spp.

2.1. Geographische Verbreitung

Echinococcus granulosus

Als Kosmopolit ist E.g. in allen Klimazonen der Erde bei einer Vielzahl von Wirten mit unterschiedlicher Häufigkeit verbreitet. Der Durchseuchungsgrad variiert stark. Er hängt von den jeweiligen hygienischen, sozialen und landwirtschaftlichen Faktoren, der Fauna sowie vor allem von der Schlachthaushygiene ab. In Ländern, in denen die Hygiene in den Schlachthäusern mangelhaft ist, zeigt sich häufig eine hohe Prävalenz.-

Die gute Anpassungsfähigkeit von E.g. an eine große Zahl von Wirtsarten und das wiederholte Einführen von Haustieren aus Europa in andere Teile der Welt haben die weite Verbreitung dieses Zestoden bewirkt (WHO 1980).-

Nach Rausch (1967 a) kommt ein sylvatischer E.g.-Stamm bei Wölfen und wildlebenden Ungulaten in Teilen von Alaska und Kanada vor. Die Infektion des Menschen bleibt in diesen Gegenden größtenteils auf Eskimos und Indianer beschränkt. Unter ihnen sind wiederum besonders die Jäger und Fallensteller betroffen (Cameron 1960, Rausch 1960), da diese Innereien bzw. Fleischabfälle von Rentieren und Elchen an ihre Hunde verfüttern.-

Derselbe oder ein zumindest sehr ähnlicher sylvatischer Stamm kommt in den nördlichen Regionen Skandinaviens vor (Ronéus 1974).-

Huldt et al. (1973) diskutierten Unterschiede zwischen dem E.g.-Stamm in Südeuropa (Hund/Schaf-Zyklus) und den E.g.-Stämmen in Kanada (Wolf/Karibu) und Nordskandinavien (Hund/Rentier).-

Island ist heute aufgrund konsequenter Bekämpfung frei von Echinokokkose, obwohl dort vor ca. 100 Jahren die höchste Infektionsrate des Menschen (22%), die jemals festgestellt wurde, existierte (Beard 1973).-

In Europa treten E.g.-Infektionen am häufigsten im mediterranen Raum auf (z.B. Spanien, Italien, Jugoslawien und Griechenland). In diesen südeuropäischen Ländern spielt der Schaf/Hund-Zyklus epidemiologisch die Hauptrolle. In Teilen Westeuropas, Großbritanniens und Irlands existiert ein Zyklus zwischen Pferd und Hund, der anscheinend nicht auf den Menschen übergeht oder

eine sehr geringe Humanpathogenität aufweist (Thompson u. Smyth 1975). Daneben gibt es in diesen Gebieten noch einen Schaf/Hund-Zyklus, der auch für den Menschen pathogen ist (Smyth 1977).-

In einigen europäischen Ländern (z.B. Belgien, Süddeutschland und Schweiz) scheint ein Rind/Hund-Zyklus zu dominieren (WHO 1980).-

In der Sowjetunion (Weißrußland) und in verschiedenen osteuropäischen Ländern (z.B. Polen, Ungarn) herrscht der Schwein/Hund-Zyklus vor (Kuznetsov et al. 1980, WHO 1980). Ein Schaf/Hund-Zyklus kommt nach Kuznetsov et al. (1980) in Uzbekistan vor.-

Im Mittleren Osten ist E.g. stark bei Schafen, Kamelen, Ziegen und Eseln verbreitet (Schantz u. Schwabe 1969).-

Weiterhin kommt E.g. in den meisten asiatischen Ländern (besonders Iran, Pakistan, Indien und Nepal) vor. Es gibt bisher keine veröffentlichten Daten bezüglich dieser Infektion in der Volksrepublik China (WHO 1980). In Südostasien wurde über das Vorkommen von E.g. in Nord- und Südvietnam, Kambodscha, Taiwan, Indonesien und auf den Philippinen berichtet (Matossian et al. 1977).-

In Australien wurde schon 1965 durch entsprechende Bekämpfungsmaßnahmen auf Tasmanien das Vorkommen von E.g. beträchtlich reduziert. Starkes Vorkommen von E.g. wurde jedoch noch aus Teilen der Staaten Neusüdwalles, Victoria und Südaustralien gemeldet (Gemmell 1961, Beard 1979).-

Neuseeland lag mit seinen Infektionsraten bis in die 50iger Jahre hinein an der Spitze aller als hyperendemisch geltenden Länder (Gemmell 1961). Danach nahm die Anzahl neuer Erkrankungsfälle durch verstärkte Bekämpfungsmaßnahmen rapide ab (Burridge et al. 1977).-

In Ostafrika ist die E.g.-Infektion im Haustierbestand weit verbreitet, jedoch ist diese Infektion des Menschen hauptsächlich auf bestimmte Volksstämme im Nordwesten Kenias (Turkana-Gebiet) und in Uganda beschränkt, wo infolge großer Armut, nomadischer Lebensweise, völlig mangelnder Hygiene sowie häufigen Vorkommens von Schakalen eine der höchsten E.g.-Befallsraten des Menschen existiert (Maccas 1955, Mann 1974, Owor u. Bitakaramire 1975, Zeyhle et al. 1984).-

In Nordafrika (Marokko, Algerien, Tunesien, Libyen, Ägypten) wird über eine weite Verbreitung von E.g. in ähnlichen Wirtszyklen wie im Mittleren Osten berichtet (WHO 1980).-

E.g.-Infektionen treten in Nord-, Zentral- und im nördlichen Südamerika auf. Der Schaf/Hund-Zyklus kommt vor allem im Westen der USA und in Mexiko vor, während der Schwein/Hund-Zyklus im Osten der USA, in Mexiko, Guatemala, El Salvador, Venezuela und Ekuador verbreitet ist (Schantz u. Schwabe 1969). Die größte Infektionshäufigkeit wurde in Gebieten Südamerikas mit intensiver Schafhaltung (Argentinien, Chile, Uruguay, Zentralperu, Bolivien, Südbrasilien) beobachtet, wo der Schaf/Hund-Zyklus dominiert (Williams et al. 1971).-

Echinococcus multilocularis

Die geographische Verbreitung von E.m. ist auf die nördliche Hemisphäre beschränkt (Rausch 1967 a).-

Er kommt endemisch in Zentraleuropa (Süd- und Nordostfrankreich, Schweiz, Süddeutschland, Westösterreich), den größten Teilen des nördlichen Eurasiens, in Bulgarien und der Türkei sowie in der Sowjetunion und auf verschiedenen Inseln Japans (Rebun, Hokkaido, Kurilen) vor (WHO 1980).- Innerhalb der Sowjetunion kommt die E.m.-Infektion in Ost- und Westsibirien, den oberen und mittleren Wolgadistrikten, im Ural, in den kaukasischen Republiken (Aserbeidschanische-, Armenische-, Georgische SSR), in der Moldauischen- und Kasachischen SSR sowie in den zentralasiatischen Republiken (Kirgisische-, Uzbekische SSR) vor (WHO 1980).-

Das südlichste Vorkommen von E.m. wird aus Griechenland, der Tschechoslowakei, dem Nordiran und Indien berichtet (Aikat et al. 1978, Mobedi u. Sadighian 1971, Šlais et al. 1979, Theodoropoulos et al. 1978).-

Die Verbreitung von E.m. in Nordamerika erscheint unregelmäßig. Sehr häufig kommt er wie sein bedeutendster Endwirt, der arktische Fuchs, in der nördlichen Tundra vor (WHO 1980). Zur Zeit gibt es keinen Anhaltspunkt dafür, daß E.m. auch in der südlichen Tundra (Zone des Nordwaldes) auftritt, aber einige Untersuchungen haben bereits gezeigt, daß ein großes und ständig an

Ausdehnung zunehmendes Gebiet im Süden Zentralkanadas (Alberta, Manitoba und Saskatchewan) und im zentral gelegenen Norden der USA (Iowa, Minnesota, Montana, Nebraska, Nord- und Süddakota sowie Wyoming) von der E.m.-Infektion betroffen ist (Leiby et al. 1970). Rausch (1967 a) vermutet, daß E.m. erst vor relativ kurzer Zeit durch importierte Hunde aus den Endemiegebieten im Norden in diese Region gebracht worden ist. Die Existenz geeigneter Wirte in den benachbarten Gebieten stellt eine potentielle Gefahr dar, da die weitere Ausbreitung von E.m. in Nordamerika auf diese Weise beschleunigt werden kann (WHO 1980).-

Derzeit ist ein Vorkommen von E.m. auf der südlichen Erdhalbkugel unbekannt. Bei den berichteten Fällen von alv.E. aus Südamerika (Szidat 1963) dürfte es sich um atypische Larvenstadien von E.g. oder durch Infektionen mit *Echinococcus oligarthrus* bzw. *Echinococcus vogeli* hervorgerufene Erkrankungen handeln (WHO 1980).-

Weitere Echinococcus-Arten

Neben E.g. und E.m. gelten gegenwärtig zwei weitere Arten als gesichert: *Echinococcus oligarthrus* (Diesing 1863) und *Echinococcus vogeli* (Rausch u. Bernstein 1972). Sie unterscheiden sich morphologisch von den ersten beiden Echinokokken-Arten und kommen in Zentral- und Südamerika vor. Dort, wo für diese beiden Spezies geeignete Wirte in den feucht-tropischen Wäldern vom Isthmus von Tehuantepec im Norden bis in den Süden Mexikos vorkommen, existieren sie in verschiedenen Regionen gleichzeitig nebeneinander (Rausch et al. 1978).-

Ein Bericht aus dem argentinischen Teil Patagoniens deutet darauf hin, daß *Echinococcus oligarthrus* auch in gemäßigten Klimaten auftritt (Schantz u. Colli 1973). *Echinococcus vogeli* wurde als Ursache einer polyzystischen Echinokokkose des Menschen nachgewiesen (D'Alessandro et al. 1979), allerdings ist bisher noch relativ wenig über seine Verbreitung bekannt.- *Echinococcus oligarthrus* wurde bis jetzt noch nicht als Ursache einer Echinokokkose beim Menschen festgestellt (Rausch et al. 1978).-

2.2. Stammunterschiede und deren epidemiologische Bedeutung

Innerhalb der Gattung *Echinococcus* sind neben den zur Zeit vier anerkannten Arten zwölf weitere, heute nicht mehr als gültig angesehene Spezies und eine Reihe von Subspezies beschrieben worden (Eckert 1981, Kumaratilake u. Thompson 1982).-

Geringfügige morphologische Varianten sollten jedoch solange als Stämme bezeichnet werden, bis ihr taxonomischer und epidemiologischer Status völlig geklärt ist (WHO 1979). Da dies bisher für keine der beschriebenen Unterarten zutrifft, werden sie heute als verschiedene Stämme angesehen.-

Bei E.g. treten zahlreiche solcher intraspezifischen Varianten (=Stämme) auf, während Hinweise dafür bei E.m. bisher nicht vorliegen (Eckert 1981). Gegenwärtig gilt es als erwiesen, daß sehr viele dieser intraspezifischen Varianten in verschiedenen Teilen der Welt vorkommen (WHO 1968, 1979, 1980; Matossian et al. 1977; Smyth 1977, 1979; Gemmell 1978; Thompson 1978, 1979).-

Für die Stammdifferenzierung reichen morphologische Kriterien allein nicht aus. Nach Rausch (1967 b) ist durch die zu starke Gewichtung schon geringfügiger morphologischer Unterschiede als individuelle Merkmale eine unklare Situation in der Taxonomie entstanden. Denn neben den morphologischen Unterschieden, für deren Ausprägung auch die Bedeutung der jeweiligen Wirtsort vernachlässigt worden ist (Smyth u. Smyth 1968, Schantz et al. 1975, Thompson 1979), bestehen z.B. Differenzen hinsichtlich der Übertragbarkeit vom Endwirt auf den Zwischenwirt und umgekehrt, der Kultivierbarkeit in vitro und in bezug auf das biochemische Verhalten. Deshalb werden heute zusätzlich verschiedene andere Methoden bzw. Kriterien für die Typisierung der Stämme benutzt.-

In England wurde dies am Pferd- und Schaf-Stamm durchgeführt. Neben morphologischen Unterschieden (Williams u. Sweatman 1963, Thompson u. Smyth 1975) und verschiedenen Zwischenwirten (Williams u. Sweatman 1963, Thompson u. Smyth 1975, Hatch u. Smyth 1975) stellten Lee et al. (1976, persönliche Mitteilung an Smyth 1977) mittels Isoelektrischer Fokussierung (IEF) biochemische Differenzen fest. Andere Untersucher (Le Riche u. Sewell 1978; McManus u. Smyth 1978, 1979; Kumaratilake u. Thompson 1979; Kumaratilake et al. 1979) konnten dies bestätigen.-

Smyth und Davies (1974) war es möglich, anhand von in vitro Kulturen mit *Protostrongylus* aus Zysten vom Schaf und Pferd physiologische Unterschiede zu finden. Auch entwicklungsbiologisch (Thompson 1976, 1977 a) und epidemiologisch (Thompson u. Smyth 1975) sind diese beiden Stämme verschieden. Le Riche und Sewell (1978) stellten mittels Elektrophorese fest, daß sich die Glucosephosphatisomerase- (GPI-) Isoenzym-Profile der Schaf- und Rind-Form von E.g. in Großbritannien sehr ähneln, Unterschiede jedoch zu E.g. beim Kamel (Nigeria) zeigen. Dieses Ergebnis wurde 1982 von Macpherson und McManus anhand einer Isoenzym-Analyse mittels IEF bestätigt.-

In Kontinentaleuropa finden sich z.T. hohe Fertilitätsraten bei Zysten vom Rind. So wurden z.B. in Belgien und in der Schweiz Fertilitätsraten von ca. 94% und 95% registriert (De Rycke u. van Grembergen 1971, Eckert 1981). Das läßt die Existenz eines eigenen kontinentaleuropäischen Rinder-Stammes vermuten, der sich von dem in Großbritannien unterscheidet. Denn dort ist die Fertilitätsrate der E.g.-Zysten bei Rindern niedrig (Kumaratilake u. Thompson 1982).-

In Bulgarien wird das Vorkommen von zwei Stämmen vermutet (Stoimenov u. Kaloyanov 1980). E.g.-Eier aus dem Schaf/Hund-Zyklus sind dort nur für Lämmer infektiös, während Eier vom Schwein/Hund-Zyklus für Schweine und für Lämmer infektiös sind. Die Überlebensrate der Zysten bei Lämmern, die mit E.g.-Eiern aus dem Schwein/Hund-Zyklus infiziert worden waren, war jedoch geringer. Morphologische Unterschiede zwischen diesen beiden Stämmen sind nicht beschrieben worden.-

Aus Rußland wurde über das Auftreten von zwei verschiedenen Stämmen berichtet. Der eine kommt vor allem beim Schwein vor, der andere in erster Linie beim Schaf.-

Die Differenzierung erfolgte unter anderem aufgrund morphologischer, biologischer, epizootiologischer sowie immunologischer Kriterien (Zenkov 1975; Kuznetsov et al. 1975, 1980).-

Der Schaf-Stamm kommt in Uzbekistan vor, während der Schweine-Stamm auf Weißrußland beschränkt ist (Kuznetsov et al. 1980).-

In verschiedenen Teilen Asiens gibt es wahrscheinlich unterschiedliche Stämme. Über einen möglichen sylvatischen Stamm Hirsch/Schakal wurde aus Sri Lanka berichtet (Paramanathan u. Dissanaïke 1961, Dissanaïke 1962). Außerdem wurde dort bei Hausrindern und Büffeln ein hoher Prozentsatz fertiler Zysten mit ungewöhnlich großer Zahl von *Protoscolices* beobachtet (Dissanaïke 1962, Paramanathan 1961).-

Aus Indien berichteten Gill und Rao (1967) über einen extrem hohen Anteil fertiler Zysten bei Büffeln (90-95%). Ihre Untersuchungsergebnisse über die Morphologie und Entwicklung dieses Stammes bei Labortieren (Gill u. Rao 1967) und die Feststellung, daß diese Variante in Füchsen geschlechtsreif wird (Rao 1968), legen die Vermutung nahe, daß beim indischen Büffel ein eigener E.g.-Stamm vorkommt. Ferner existiert dort eventuell ein Stamm mit dem Entwicklungszyklus Ziege/Hund (Pandey 1972).-

In Afrika häufen sich die Hinweise für das Vorkommen verschiedener Stämme. Bei den Turkana im Nordwesten Kenias z.B. ist die zyst.E. sehr stark verbreitet, während Nachbarstämme, bei deren Viehbestand E.g. auftritt, selten daran erkranken. Möglicherweise ist dies die Folge eines Lokalstammes, der beim Menschen virulenter ist (Thompson 1979).-

1982 stellten Macpherson und McManus in einer vergleichenden Isoenzym-Analyse (Glucosephosphatisomerase= GPI; Phosphoglucomutase= PGM) des E.g. von Mensch und Tier (Kamel, Rind, Schaf und Ziege) in Kenia mittels IEF Unterschiede zwischen E.g. vom Rind einerseits sowie vom Schaf und Menschen andererseits fest. Schon 1981 zeigte McManus anhand biochemischer Kriterien, daß in Kenia E.g. vom Schaf und Menschen eng miteinander verwandt sind. Hingegen differierte das E.g.-Material von Rind, Kamel und Ziege sowohl untereinander als auch in bezug auf die vom Menschen bzw. Schaf gewonnenen Proben. Zwar wurden diese Resultate durch die Nachfolgearbeit von Macpherson und McManus (1982) bestätigt, jedoch zeigte sich in ihrer Arbeit, daß die "Stammszene" in Kenia wohl komplexer ist als zunächst vermutet: Die Übereinstimmung der Isoenzym-Muster (GPI, PGM) des Untersuchungsmaterials vom Schaf und Menschen ließ sie vermuten, daß es sich dabei um Material eines eigenständigen, homogenen bzw. monomorphen Stammes in Kenia handelt.- Einen weiteren eigenständigen Stamm scheint es dort beim Kamel zu geben.- Nicht so klar umrissen ist die Situation beim Rind, da bei diesem Material unterschiedliche GPI-Muster auftreten.-

Die bei der Ziege differierenden Isoenzym-Muster - sowohl für GPI als auch

für PGM - zeigen, daß es zwei verschiedene Formen von E.g. bei der Ziege gibt; die eine scheint sehr der Schaf-, Mensch- und möglicherweise auch der Rind-Variante zu ähneln, die andere ist der Kamel-Form sehr ähnlich.- Es gibt Anhaltspunkte aus biochemischen Arbeiten, daß die Schaf-Formen von E.g. in Großbritannien, Kenia und Südamerika unterschiedliche geographische Varianten darstellen, die als Unterstämme bezeichnet werden können (McManus u. Smyth 1978, McManus 1981). Deshalb ist es erstaunlich, daß sich die GPI- und PGM-Isoenzym-Muster dieser 3 Varianten so ähnlich sind. Dieses Beispiel zeigt wiederum die Bedeutung der Anwendung verschiedener Methoden für die Charakterisierung eines bestimmten E.g.-Stammes.-

Graber und Thal (1980) berichteten über einen möglichen sylvatischen Zyklus in Zentralafrika. Infektionsversuche an Hunden mit *Protoscolices* von Warzenschweinen verliefen negativ, während bei Löwen in derselben Region E.g.-Infektionen gefunden wurden. Deshalb wird angenommen, daß hier eventuell ein sylvatischer Zyklus zwischen Warzenschwein und Löwe besteht.-

In Uganda wurde ein sylvatischer Zyklus Löwe/Warzenschwein oder Löwe/afrikanischer Büffel nachgewiesen (Graber u. Thal 1980).-

In Südafrika wurden Löwen experimentell mit *Protoscolices* vom Zebra infiziert (Young 1975). Außerdem wurde das Auftreten von E.g. bei Löwen in Südafrika von Ortlepp (1937) und Verster (1962, 1965) beschrieben.-

Es gibt auch Anzeichen dafür, daß ein eigener Rinder-Stamm in Südafrika existiert. Die Fertilitätsrate von E.g.-Zysten bei Rindern liegt dort nach Verster (1962) sehr hoch (bis zu 96,8%). Ganz im Gegensatz dazu steht die sehr geringe Fertilitätsrate dieser Zysten bei Rindern z.B. in Australien (Durie u. Riek 1952, Thompson 1979) und Großbritannien (Thompson 1977). Auch biochemische Untersuchungen stützen die Hypothese eines eigenen Rinder-Stammes von E.g. in Afrika (McManus 1981).-

In verschiedenen Regionen Australiens deuten die bisherigen Ergebnisse darauf hin, daß es dort drei unterschiedliche Stämme gibt (Thompson u. Kumaratilake 1982). Es existieren zwei Haustierstämme mit dem Entwicklungszyklus Schaf/Hund; der eine findet sich nur auf dem australischen Festland, während der andere Stamm ausschließlich auf Tasmanien vorkommt. Lightowlers et al. (1984) bestätigten diese Ergebnisse.-

Der dritte australische Stamm ist ein sylvatischer, der nur bei den makropoden Beuteltieren vorkommt (Kumaratilake u. Thompson 1982).-

Während die taxonomische Einordnung der vier heute anerkannten Arten der Gattung *Echinococcus* eindeutig und allgemein gültig ist, gestaltet sich die Situation bei E.g., wie eben anhand vieler Beispiele gezeigt, durch die Existenz zahlreicher intraspezifischer Varianten mit zum Teil unsicherem taxonomischen Status wesentlich komplizierter. Nur durch die Anwendung vieler Differenzierungsmethoden läßt sich diese komplexe Stamm-Szene und damit auch die Epidemiologie sowie geographische Verbreitung der Echinokokkose klären.-

Die Ursachen für das Auftreten derartig zahlreicher Stämme bei E.g. liegen vielleicht in bestimmten Besonderheiten seines Reproduktionsmechanismus gegenüber den drei anderen Arten (Kumaratilake u. Thompson 1982). So ist die Selbstbefruchtung, die bisher ausschließlich bei E.g. nachgewiesen worden ist (Smyth u. Smyth 1969), kombiniert mit der bei den Echinokokken explosionsartigen ungeschlechtlichen Vermehrung sowie der von allen Echinokokken geringsten Zwischenwirt-Spezifität ein wesentlicher Faktor. Hinzu kommt die Tatsache, daß E.g. die einzige Echinokokken-Art ist, zu deren großer Zahl an Zwischenwirten auch der Lebensmittelgewinnung dienende Haustiere gehören. Dies hat sehr viel zu der gegenwärtig weiten geographischen Verbreitung dieser Spezies beigetragen. So wird es verständlich, daß E.g.-Stämme bei der gleichen Wirtsart in verschiedenen geographischen Räumen existieren: z.B. kommt E.g. beim Schaf in Großbritannien, Afrika und zwei getrennt gelegenen Gebieten Australiens vor und scheint dort jeweils einen eigenen Stamm zu repräsentieren. Ähnliches wird bei E.g. von Rindern und Pferden unterschiedlicher geographischer Gebiete beobachtet (Kumaratilake u. Thompson 1982).-

E.g.-Varianten, die vor allem Wildtiere in ihren Entwicklungszyklus einbeziehen, stellen meist eigene Stämme dar. Dies wurde anhand verschiedener sylvatischer Zyklen gezeigt: z.B. zwischen Dingo und makropoden Beuteltieren in Australien sowie zwischen Löwe und Warzenschwein in Zentralafrika.- Ob andere sylvatische Zyklen, wie z.B. zwischen Koyote und Hirsch in Kalifornien (Liu et al. 1970, Brunetti u. Rosen 1970, Romano et al. 1974) sowie zwischen Fuchs und Hase in Argentinien (Schantz et al. 1972), eigene Stämme darstellen, bleibt nach Kumaratilake u. Thompson (1982) noch abzuwarten.-

2.3. Diagnose beim Tier

2.3.1. Larvenstadien bei Haus- und Wildtieren

Bis jetzt gibt es noch keine befriedigenden Techniken für die Immundiagnose der larvalen Echinokokkose bei Tieren. Deshalb muß man hier immer noch auf die konventionelle Autopsie zurückgreifen.-

Gesammeltes Zystenmaterial soll entweder in 4-10%iger Formollösung konserviert oder für den Transport in ein Labor tiefgefroren und in Eis verpackt werden (WHO 1980).-

Der larvale Echinococcus ist z.T. durch bloße Adspektion der Organe erkennbar, jedoch sollte gerade bei größeren Tieren (z.B. Schaf und Rind) palpiert und wo nötig Inzisionen der Organe durchgeführt werden (WHO 1980).-

Die Diagnose ist besonders bei Schwein, Schaf und Ziege vorsichtig zu stellen, da diese Tiere auch durch *Taenia hydatigena* infiziert werden. Manchmal dürfte es schwierig, wenn nicht sogar unmöglich sein, zwischen diesen beiden Parasiten in der Leber zu unterscheiden (Gemmell 1968).-

Bei Wildtieren, besonders bei Wiederkäuern und Nagern, sind verschiedene andere Bandwurmarten in die differentialdiagnostischen Überlegungen mit einzu beziehen (Sachs u. Sachs 1968, Dinnik u. Sachs 1969).-

Durch histologische Untersuchung des Larvenmaterials dürfte es möglich sein, die Diagnose zu sichern. Formolfixiertes Material kann mit den konventionellen Färbemethoden für die Histologie aufbereitet werden. Das Vorhandensein einer PAS-positiven zellfreien, lamellierten Hülle mit einer inneren zellulären, kernhaltigen Keimmembran kann als spezifisches Merkmal der Metacestoden von Echinococcus betrachtet werden. In unklaren Fällen können biochemische Techniken, wie die Bestimmung von Isoenzymen mittels Elektrophorese und Elektrofokussierung bei der Differentialdiagnose weiterhelfen.-

2.3.2. Adulte und Eier bei Karnivoren

Der parasitologische Nachweis der adulten Echinokokken oder Eier bei Fleischfressern mittels Autopsie oder Kotuntersuchung ist derzeit noch das Mittel der Wahl für die Diagnostik dieser Parasitose beim Endwirt, da geeignete serologische Tests derzeit noch nicht zur Verfügung stehen.

Der Kot kann dann mit weißen, stäbchenförmigen Proglottiden (1-3 mm) übersät sein (Preiß u. Lübke 1978).-

Zur parasitologischen Untersuchung dienen die abgegangenen Proglottiden bzw. die durch Zerzupfen der Glieder freigesetzten Eier. Eintrocknete Proglottiden sollten zunächst einige Minuten in Wasser gelegt werden.-

Da die Echinokokkenproglottiden und -eier nicht kontinuierlich ausgeschieden werden, ist es oft schwierig, die Echinokokken durch direkte Untersuchung des Kotes nachzuweisen. Deshalb sollte bei Verdacht auf eine Echinokokken-Infektion eine "diagnostische Entwurmung" durchgeführt werden.

Dazu wird nach der Gabe von Praziquantel (Droncit^R) Arecolin-Hydrobromid (Hydarex^R) oder Arecolin-Acetarson (Tenoban^R, Nemural^R) verabreicht (WHO 1980).-

2.4. Diagnose beim Menschen

Bei der Anamneseerhebung ist aufgrund epidemiologischer Aspekte auf das Herkunfts- bzw. Urlaubsland des Patienten zu achten.-

2.4.1. Klinisch-symptomatische Diagnose

Da E.g. beim Menschen prinzipiell alle Organe, wenn auch mit unterschiedlicher Häufigkeit, befallen kann, ist die Symptomatik entsprechend der betroffenen Organe sehr verschieden. Die Zysten verdrängen je nach ihrem Sitz und Umfang das Wirtsgewebe des zunächst befallenen Organs und im späteren Verlauf der Krankheit auch Nachbarorgane. Es werden organabhängige Beschwerden, Atrophie und Kompressionssymptome beobachtet. Weiterhin können auch Perforationen, Embolien, Infektionen mit Sepsis, anaphylaktische Reaktionen, Schock und toxische Schäden auftreten (Dreßler et al. 1969).-

Nach spontaner oder operationsbedingter Ruptur einer E.g.-Zyste kommt es aufgrund der Wirtssensibilisierung durch den ständigen Antigenreiz häufig zum anaphylaktischen Schock oder zum Exitus subitus. Chronisch toxische Schäden führen zur sogenannten "Hydatidenkachexie".-

Die primäre zyst.E. findet sich zu ca. 75% in der Leber. Die anamnestisch faßbare Krankheitsdauer erstreckt sich von wenigen Monaten bis über einige Jahrzehnte. Außer einer Vergrößerung der Leber können bei kleinen Zysten oder frühzeitigem Absterben jegliche Symptome fehlen.-

Die Lunge wird als zweiter Kapillarfilter zu ca. 10-23% (Alexander u. Raettig 1981) von E.g. befallen. Am meisten ist der rechte Unterlappen betroffen. Die Ausbreitung geht zur Brustwand hin. Die Zysten können in dem wenig Widerstand bietenden elastischen Lungengewebe schnell eine beträchtliche Größe erreichen. Sie werden aber oft früher entdeckt als in der Leber (Röntgenroutineuntersuchungen). Es handelt sich hier meist um unilokuläre Solitärzysten. Bei einer Sekundärechinokokkose sind sie multipel. Es kann zur intrabronchialen Ruptur und zum Aushusten von Parasitenmaterial kommen. Im späteren Krankheitsverlauf treten chronischer Husten, Brustschmerzen, Kurzatmigkeit sowie Hämoptysie auf, die zur Diagnose führen können.-

E.g.-Zysten entstehen in anderen Organen meist sekundär aus rupturierten Zysten in der Leber.-

E.m. befällt beim Menschen primär ausschließlich die Leber. Der rechte Leberlappen ist der bevorzugte Ort der Larvenansiedlung. Metastasierungen in Nachbarorgane, wie z.B. in beide Lungen (Minning 1952), in die Milz und vom linken Leberlappen in den linken Zwerchfellabschnitt sind bekannt (Kümmerle 1957), außerdem kann E.m. auch ins Gehirn metastasieren (Vogel u. Schumacher 1957).-

2.4.2. Nicht serologische Diagnoseverfahren

Intradermaltest (IDT)

Dieser von Casoni für die Diagnose der Echinokokkose beim Menschen entwickelte Hauttest (Casoni 1911) wird mindestens 5-7 Stunden (Spätreaktion) nach intrakutaner Injektion von 0,1 bis maximal 0,2 ml Antigen (Zystenflüssigkeit) abgelesen, wobei stets die Ausführung einer Kontrollprobe mit 0,1%iger Peptonbouillon nötig ist (Winkle 1979). Bei positiver Reaktion bildet sich an der Injektionsstelle eine gerötete, ödematöse Infiltration der Haut mit einem Durchmesser von ca. 2-5 cm (Alexander u. Raettig 1981).- Verschiedene Untersucher kommen hinsichtlich der Sensitivität und Spezifität des IDT zu unterschiedlichen Ergebnissen. Eine Ursache dafür ist der Einsatz verschiedener Antigenmengen und unterschiedlicher Antigenaufbereitungen. Zusätzliche Differenzen können durch unterschiedliche Interpretation der Hautreaktion zustande kommen (Kagan 1974).-

Seit längerer Zeit wird vermutet, daß diese Antigeninjektionen zur Ausbildung humoraler Antikörper führen und auf diese Weise eine spätere serologische Diagnostik der Echinokokkose verfälschen könnten. Gründliche Untersuchungen dieser Frage stehen bisher wohl noch aus. Nach Mannweiler (1980) kann die Berechtigung dieser Annahme bezweifelt werden, da es schwer vorstellbar sei, wie eine so geringe Antigenmenge, wie sie für die intrakutane Inokulation erforderlich ist eine Serum-Antikörperproduktion in Gang setzen sollte, die bei der zyst.E. differentialdiagnostische Schwierigkeiten verursachen könnte. Bei vitalen Zysten mit durchlässigen Membranen findet im Gegensatz dazu eine über Monate oder noch länger dauernde Antigenfreisetzung statt, über deren Folgen in bezug auf die Antikörperbildung viele Erfahrungen vorliegen (Mannweiler et al. 1979).-

Direkter Parasitennachweis

Da bei Verdacht auf Vorliegen einer Echinokokkose raumfordernde Prozesse nicht punktiert oder probeexzidiert werden dürfen (Gefahr der "Echinokokken-Aussaat", Piekarski 1954), ist der direkte Parasitennachweis präoperativ bzw. in vivo nicht möglich.-

Nur bei einer Lungenechinokokkose können eventuell im Sputum Teile (Häkchen) der Echinokokkenlarven (Protoscolices) nachgewiesen werden. Es können unter Umständen sogar ganze Echinokokkenblasen ausgehustet werden.- Postoperativ können in der Zystenflüssigkeit oder im Zystengewebe Kopfanlagen oder Häkchen nachgewiesen werden. Bei letzteren ist durch Messung eine Differenzierung in E.g. und E.m. möglich (Vogel 1957).-

Darüberhinaus kann auch der Aufbau der Zystenwand bzw. das den Parasiten umgebende Gewebe des Wirtes (Perizyste) einen diagnostischen Anhalt geben. Nach Vogel (1978) gehört der Mensch zu den Zwischenwirten, die mit besonders intensiver Fibrose auf E.m. reagieren. So kommt es zur Bildung einer derben bindegewebigen Perizyste. Außerdem werden bei der alv.E. des Menschen oft alte Zysten mit dicker Kutikula und atrophischer Keimschicht gefunden (Vogel 1978). Des weiteren zeigen sich bei der alv.E. im Gegensatz zur zyst.E. deutliche zelluläre Reaktionen im perizystischen Bereich; man findet zahlreiche eosinophile und neutrophile Granulozyten, Lymphozyten sowie Plasmazellen (Piekarski 1954).-

Da die parasitären Strukturen durch bakterielle Sekundärinfektionen, Verkalkungen sowie Nekrosen zerstört sein können, enthält das Probenmaterial jedoch nicht immer die für diese Parasiten typischen Bestandteile (Bähr 1981).-

Laparoskopie

Mit Hilfe dieser Technik ist nur ein an einer Organoberfläche gelegener Befall mit Echinokokken zu erkennen. In einigen Fällen von zyst.E. lassen sich prallelastische Vorwölbungen der Leberoberfläche und manchmal auch weitere Zysten im großen und kleinen Netz feststellen. Bei E.m. stellt sich die Leberoberfläche meist höckerig dar (Schicker 1976).-

Auch bei der Laparoskopie muß auf eine Probepunktion oder -exzision verzichtet werden, da durch die Verletzung des Parasiten immer die Gefahr einer "Echinokokken-Aussaat" (Piekarski 1954) besteht.-

Bronchoskopie

Bei der zyst.E. der Lunge kann sich die physiologische Bronchienarchitektonik verändern. Bei diesen Patienten lassen sich dann z.T. Bronchusirritationen, -dilataationen und -abbrüche nachweisen (Schicker 1976).-

Röntgenuntersuchung

Die zyst.E. der Lunge stellt sich charakteristisch als scharf begrenzte, rundliche bis ovale Verschattung dar (Bähr 1981).-

Zysten in der Leber werden sowohl bei E.g. als auch bei E.m. röntgenologisch nur dann sichtbar, wenn sie Kalkeinlagerungen aufweisen. Aufgrund des expansiven Wachstums der Zysten von E.g. kann es auch zur Verdrängung benachbarter Organe kommen. In der Röntgenaufnahme zeigt sich dies in Magenverlagerungen, Verschiebungen der rechten Niere und Hochdrängen des Zwerchfells.-

Bei der Angiographie ermöglichen gezielte Gefäßdarstellungen, wie Splenoportographie und selektive Arteriographie der Leber, den Nachweis sowie die Lokalisation kleiner raumfordernder Prozesse. Oft wird auch die Differentialdiagnose gegenüber anderen Raumforderungen erleichtert (Bähr 1981).-

Szintigraphie

Eine zyst.E. oder alv.E. der Leber oder Milz stellt sich durch Speicherdefekte im Szintigramm dar, da das Echinokokkengewebe keine radioaktiven Substanzen speichert. Die ausgefallenen Areale werden in der Lebertiefe ab einem Durchmesser von 3 cm sichtbar, kleinere Herde sind hingegen nur in den Randbezirken darstellbar. E.g.-Zysten erscheinen als scharf begrenzte Speicherdefekte, dagegen kommt es bei E.m. zu fleckförmigen Ausfallbezirken in einer vergrößerten Leber (Bähr 1981).-

Sonographie

Durch die sehr differenzierten Reflexionseigenschaften parenchymatöser Organe sowie intraparenchymatöser Strukturen gegenüber pathologischen, soliden und liquiden Prozessen lassen sich mit hoher Trefferquote E.g.-Zysten und E.m.-Herde im Bauchraum nachweisen (Bähr 1981).-

Computertomographie

Die Zysten zeigen sich als glattbegrenzte, wasserisodense Räume, die bei E.g. oft eine größere Dichte haben und pathognomisch in ca. 50% der Fälle intrazystische Blasen und Agglomerate von Tochterblasen aufweisen (Bähr 1981). Das kann zu soliden Dichtewerten führen, die eine differentialdiagnostische Abgrenzung von Blutungen oder Abszessen nötig machen (Schulze et al. 1980).-

Die diffusen Infiltrationen von E.m. lassen sich mit dieser Methode gut darstellen. Nekrosen und Verkalkungen können auch in kleinsten Arealen sichtbar gemacht werden (Bähr 1981).-

2.4.3. Serologische Diagnostik

Da präoperativ der direkte Parasitennachweis nur sehr selten möglich ist und klinische Diagnoseverfahren nur einen Anhaltspunkt geben können, kommt dem Antikörpernachweis ausschlaggebende diagnostische Bedeutung zu.-

Bei einer durch kombinierte Anwendung geeigneter immunologischer Verfahren erzielten Nachweisquote von bis zu 95% der an dieser Zoonose erkrankten Patienten kann von einer soliden Diagnostik gesprochen werden. Jedoch ist dabei immer zu beachten, daß die Aussagekraft aller serologischen Tests durch zahlreiche Faktoren beeinflußt wird.-

Für die Stärke der immunologischen Reaktion ist das Alter des Patienten insofern von Bedeutung, als daß Kinder serologisch schwächer reagieren als Erwachsene (Todoroff et al. 1976). Außerdem spielt das Stadium der Echinokokken-Infektion und die Zystenbeschaffenheit eine große Rolle, z.B. rufen aktive, proliferierende Zysten eher eine Antikörperproduktion des Wirtes hervor als abgestorbene, verkalkte Zysten. Die Zystenlokalisation ist ebenfalls ein wichtiger Faktor: Zysten in der Lunge verursachen, da sie oft steril sind, meist eine geringere Antikörperproduktion als z.B. in der Leber und sind deshalb serologisch schlechter erfaßbar; bei primären Zysten der Augen und des ZNS sind häufig keine Serumantikörper nachzuweisen (Bähr 1981).-

Die Aussagekraft der serologischen Methoden wird in der Echinokokkose-Diagnostik durch folgende Kriterien bestimmt:

Die Sensitivität ist der Prozentsatz der richtig positiven Reaktionen bei Patienten mit Echinokokkose.-

Die Spezifität ist der Prozentsatz der richtig negativen Resultate bei Patienten mit anderen Krankheiten (Kreuzreaktionen) und gesunden Kontrollpersonen.-

Die Art der verwendeten Antigene (Rohantigene, gereinigte Antigene oder Antigenfraktionen) hat vor allem Einfluß auf die Testspezifität. Das jeweilig angewandte serologische Testverfahren, mit den empirisch gewonnenen und entsprechend festgesetzten Kriterien für die Grenze zwischen positivem und negativem Ergebnis, ist naturgemäß mit einer der entscheidenden Faktoren für die Sensitivität und Spezifität. Inwieweit Echinokokken-Arten und -Stämme wesentlich die einzelnen Tests beeinflussen, bleibt abzuwarten.-

Agglutinationsreaktionen

Bei diesem Verfahren werden korpuskuläre Antigene durch spezifische Antikörper in Brücken miteinander vernetzt, so daß diese Antigen-Antikörper-Komplexe auch mit bloßem Auge erkennbar sind. Die Echinokokken-Antigene müssen an die Oberfläche natürlicher oder künstlicher Trägerpartikel adsorbiert werden, da sie nicht zellulär gebunden vorliegen. In der Echinokokkose-Diagnostik werden je nach Partikelart drei verschiedene Trägervarianten angewandt.-

In der Indirekten Hämagglutination (IHA) werden tannierte Erythrozyten eingesetzt. Bei der Latexagglutination (LA) werden die Antigene an Latexpartikel gebunden. Dafür werden Cholesterin-, Divinylstyren- oder Polystyrolteilchen in einer einheitlichen Größenordnung von 0,7 - 0,86 µm benutzt. Im Bentonit-Flocculation Test (BFT) werden 1 - 2 µm große Bentonitpartikel verwendet (Meyniel u. Plagne 1966).-

Die Sensitivität der Indirekten Hämagglutination (IHA) wird vor allem durch den für die Erythrozyten verwendeten Stabilisator beeinflusst. Weitere Auswirkungen auf die Empfindlichkeit sind durch die Art der eingesetzten Erythrozyten sowie die verwendeten Antigene zu erwarten (Kagan 1974, Varela-Díaz et al. 1975 b).-

Nach Disko und Braveny (1979) sowie Hess et al. (1974) kann bei IHA-Titern von 1:180 mit 96%iger Wahrscheinlichkeit das Vorliegen einer Echinokokkose angenommen werden.-

Die bei der IHA diagnostisch signifikanten Titer korrelieren wie die der LA gut mit der Immunelektrophorese (IEP).-

Bei der IHA sind einige Varianten möglich (z.B. Antigen- und Erythrozyten-

art, Tannierung, Ablesung), ohne daß die Qualität dieser Methode stark beeinträchtigt wird. Für die epidemiologische Reihenuntersuchung sind besonders die Mikrotitermethode und die Tropftechnik geeignet (WHO 1968, Imari 1962, Kagan 1968). Über das postoperative Verschwinden der positiven IHA-Titer existieren unterschiedliche Angaben: z.T. verschwinden sie nach einem Jahr (Hutchison 1968, Roy et al. 1970, Sorice et al. 1966), nach Giunchi et al. (1974) spricht die IHA jedoch noch nach über 2 Jahren mit 69% gegenüber einem präoperativen Ausgangswert von 83,5% an.-

Die Latexagglutination (LA) wurde von Fischman (1960 a, b) eingeführt. Er berichtete über eine dem BFT ähnlich gute Sensitivität der LA. Die Sensitivität dieses Tests bei Leberbefall mit *Echinococcus* liegt bei ca. 96%, sie sinkt jedoch bei Lokalisation in der Lunge auf ca. 74% ab (Williams u. Prezioso 1970). Durch Inaktivierung der Seren können falsch positive Werte weitgehend vermieden werden, aber dadurch kann wiederum ein Sensitivitätsverlust eintreten. Hinsichtlich der Spezifität kamen verschiedene Untersucher zu unterschiedlichen Ergebnissen. So wurden gegenüber anderen Methoden z.T. weniger unspezifische Reaktionen bei Malignomen und anderen Krankheiten festgestellt (Hutchison 1968). Dagegen traten bei Zorikhina (1970) häufiger falsch positive Ergebnisse bei Leberzirrhosen und -neoplasmen auf. Nach Fischman (1968) reagiert aus Zystenflüssigkeit (ZF) hergestelltes Antigen bei der LA viel empfindlicher als Scolex-Antigen. Garabedian widerlegte 1971 diese Resultate und sah die Ursache dieser Unstimmigkeiten in methodischen Ungenauigkeiten. Die LA korreliert gut mit der IEP (Varela-Díaz et al. 1975 a) und ist eine einfache, schnelle und gute Methode.-

Zuerst veröffentlichten Norman et al. 1959 eine Arbeit über die Durchführung des Bentonit-Flocculation Test (BFT). Kagan et al. (1959) erreichten mit dem BFT eine Sensitivität von 90% und eine Spezifität von 89,8%. Eine Differentialdiagnose zwischen einer E.g.- und E.m.-Infektion des Menschen gelang jedoch auf diese Weise nicht, da nicht alle artspezifischen Antigenfraktionen zur Reaktion kommen (Kagan et al. 1960 a). Die Seren von gesunden Personen bringen fast ausschließlich negative Ergebnisse, dagegen treten bei Patienten mit anderen z.T. parasitären Erkrankungen immer einige unspezifische, falsch positive Werte auf. Eine mögliche Ursache dafür könnte im Vorhandensein von Autoantikörpern bei Lebererkrankungen liegen. Diese Autoantikörper sprechen auf eine Antigenfraktion der ZF an, die sich auch in der Leber des Wirtes findet (Kagan 1968).-

Spätere Resultate von Giunchi et al. (1974) erbrachten zwar nur eine Sensitivität von 72,7%, es kam jedoch nicht zu unspezifischen Reaktionen. Als positive Ergebnisse werden beim BFT Titerwerte zwischen 1:5 und 1:1280 angesehen (Kagan 1963).-

Präzipitationsreaktionen

Präzipitation in flüssigem Milieu

Die einfachste Methode für den Nachweis einer Antigen-Antikörper-Reaktion in Lösung besteht darin, beide Reaktionspartner übereinander zu schichten, um anschließend an der Grenzfläche der Überschichtung bei der Reaktion löslicher, multivalenter Antigene mit homologen, bivalenten Antikörpern ein Präzipitat in Form eines Ringes (Ringtest) nachzuweisen. Die Sensitivität dieser Methode erreicht ca. 70% (Jirovec 1960).-

Obwohl es für den Aggregationsnachweis in flüssigem Milieu neben diesem rein qualitativen auch ein quantitatives Verfahren, die Laser-Nephelometrie, gibt, werden diese Tests in der Echinokokkose-Diagnostik äußerst selten benutzt.-

Präzipitation in Gelen

Weniger für die Echinokokkose-Diagnostik, als vorwiegend zur immunchemischen Identifizierung von Antigen- und Antikörperkomponenten sowie zur Adsorption von unerwünschten, unspezifischen Fraktionen, wurden vor allem die Doppelimmundiffusion (DD) und die Immunelektrophorese (IEP) eingesetzt.-

Bei der Doppelimmundiffusion nach Ouchterlony (DD) müssen für eine Aggregation und Präzipitation der Antigen-Antikörper-Komplexe ebenfalls multivalente Antigene mit bivalenten Antikörpern reagieren. Bei der DD diffundieren Antigen- und Antikörpermoleküle, die zuvor in die in Agar gel gestanzten Löcher gegeben worden sind, gegeneinander, präzipitieren und bilden im Äquivalenzbereich eine sichtbare opake Linie (Präzipitationslinie).-

Besonders bei der Antigenanalyse von Echinococcus brachte die DD neue Resultate. Die Antigene aus ZF, Scolices und Keimmembranen sowohl von E.g. als auch von E.m. unterscheiden sich in ihrer Aktivität mit Serum von immunisierten Kaninchen und Echinokokkose-Patienten sehr deutlich voneinander (Kagan u. Norman 1961). Je nach Echinokokken-Spezies (E.g. oder E.m.), Antigenmaterial (z.B. Scolices oder ZF), Wirtsspezies und Aufbereitungsverfahren (roh, gereinigt, konzentriert, fraktioniert etc.) setzen sich

Echinokokken-Antigene aus einer variablen Anzahl von Komponenten zusammen. Diese sind nur teilweise parasitären Ursprungs, der andere Teil stammt vom Wirt. Mittels Agargel-Diffusion wurden in ZF vom Menschen (E.g.) 6-8 Wirtskomponenten nachgewiesen, die als Serumproteine identifiziert werden konnten (Norman et al. 1964). Capron et al. (1968) nahmen an, daß der Parasit selbst durch Induktion wirtsähnliche Proteine synthetisiert, um durch diese "Maskierung" seine Abstoßung durch den Wirt zu verhindern. Nach Coltorti und Varela-Díaz (1972) gelangen jedoch die Serumproteine des Wirtes vom umgebenden Wirtsgewebe durch die Zystenwand in die Zyste. Untersuchungen über die Penetration von Wirts-IgG-Molekülen in die Zyste mittels Radioimmunoassay (RIA) zeigten ein von der Wirts-IgG-Konzentration, Zystenimplantationsdauer und von der Wachstumsrate, Fertilität sowie Größe der Zysten unabhängiges, irreguläres Auftreten des Wirts-IgG in der ZF. Dies legt die Vermutung nahe, daß es sich bei der Penetration von Wirts-IgG um einen zufälligen Vorgang, ähnlich dem gelegentlichen Auftreten von Mikrofissuren im Tegument, hervorgerufen entweder mechanisch, immunologisch oder während des Plasmamembran-Turnover, handelt (Coltorti u. Varela-Díaz 1975 a).-

Die Immunelektrophorese (IEP) wird ebenfalls vor allem zur Identifizierung von Echinokokken-Antigenen benutzt (Norman et al. 1964). Sie wird aber auch zur Diagnose der Echinokokkose eingesetzt (Yarzabal 1970, Coltorti u. Varela-Díaz 1975 b, Varela-Díaz et al. 1977, Yarzabal et al. 1977).- Zuerst wird das Antigen elektrophoretisch aufgetrennt, anschließend bringt man das zu untersuchende Serum parallel zu elektrophoretischen Wanderungsrichtung des Antigens in einen Graben ein und läßt dann beide Reaktanten gegeneinander diffundieren. Dort, wo sich die Antigene und korrespondierenden Antikörper treffen, bilden sich in ihrem Äquivalenzbereich Präzipitationslinien aus. Aufgrund ihrer Position, Form und Intensität können die einzelnen Proteine identifiziert und ihre Konzentration grob beurteilt werden. Die IEP ist jedoch in ihrer Durchführung relativ kompliziert und es werden bei dieser Methode relativ große Mengen an Antigen und Serum benötigt. Diese Testbedingungen schränken die Anwendungsmöglichkeiten der IEP für seroepidemiologische Untersuchungen ein. Da mit dem Echinokokken-spezifischen Antigen "arc 5" bisher in Echinococcus-negativen Seren keine "arc 5"-Antikörper nachgewiesen werden konnten (Bout et al. 1974), besteht durch die IEP die Möglichkeit, bei einer kombinierten Anwendung mit der LA und der IHA (Screening-Methoden) einen bestehenden Verdacht auf Echinokokkose abzuklären.-

"Arc 5"-Antikörper sind jedoch nicht E.g.-spezifisch, d.h. sie treten auch oft in Seren von Patienten mit einer E.m.-Infektion auf. Dies wird mit den nach Qualität und Quantität wechselnden Antigenkomponenten unterschiedlicher E.m.-Stämme (Yarzabal et al. 1977) oder mit einer qualitativ und/oder quantitativ unterschiedlichen Antigenfreisetzung während des Wachstums der E.m.-Larve (Varela-Díaz et al. 1977) und der damit eventuell in Zusammenhang stehenden Nachweisbarkeit der Antikörper-Antwort zu erklären versucht.-

Eine Modifikation der IEP stellt die Gegenstrom-Immunelektrophorese dar. Mit diesem qualitativen Verfahren lassen sich präzipitierende Antigen-Antikörper-Komplexe nachweisen und identifizieren. Man nutzt dabei die Eigenschaft der meisten Antigene aus, im elektrischen Feld zur Anode zu wandern. Der korrespondierende Antikörper bewegt sich unter diesen Versuchsbedingungen aufgrund der Elektroendosmose entgegen dieser Elektrophoreserichtung zur Kathode. An der Überwanderungsstelle entsteht ein sichtbares Immunpräzipitat.-

Die Sensitivität der Gegenstrom-IEP liegt höher als die der IEP. Vorteilhaft ist auch, daß weniger Antigen und Serum benötigt wird. Kreuzreaktionen lassen sich durch den Einsatz von "arc 5" bzw. durch die Verwendung eines spezifischen Kontrollserums mit "arc 5" vermeiden. Unter diesen Voraussetzungen gelang es Pinon et al. (1979) 76% der untersuchten Patientenserum als Echinokokken-positiv zu erkennen. Todorov und Jeleva (1979) erreichten mit der Gegenstrom-IEP eine Empfindlichkeit von 80%. Es kam aber bei 5% der Seren zu unspezifischen Reaktionen mit meist nur einer Präzipitatlinie.-

Der Enzyme-Linked Immunoelctrodiffusion Assay (ELIEDA) stellt eine Weiterentwicklung der Gegenstrom-IEP dar (Pinon et al. 1979). Die Spezifität des ELIEDA ist ebenfalls von "arc 5" abhängig. Die Sensitivität dieser Methode liegt bei ca. 88%. Die Gegenstrom-IEP wird durch die bei dieser Technik zusätzlich nachgewiesenen Antikörperklassen der Immunantwort erweitert. Liegt z.B. ein bestimmtes Präzipitationsmuster - der "glove finger" - vor, so kann man auf das Vorliegen einer geplatzten Echinokokkenzyste schließen (hohe IgM-Aktivität).-

Komplementbindungsreaktion (KBR)

Die Antigen-Antikörper-Reaktion ist bei der KBR zusätzlich noch mit dem Verbrauch von Komplement verbunden (System I). Besitzt das Patientenserum spezifische Echinokokken-Antikörper, so erfolgt eine Verbindung mit dem Echinokokken-Antigen unter Bindung des Komplements. Dadurch ist das Komplement für das anschließend zugesetzte hämolytische Indikatorsystem (System II) nicht mehr verfügbar und die Hämolyse bleibt aus. Das Fehlen der sichtbaren Hämolyse bedeutet also ein positives Resultat. Sind jedoch nicht genug spezifische Antikörper im System I vorhanden, so daß durch nicht verbrauchtes Komplement im System II eine Hämolyse eintritt, ist die KBR negativ.-

Nach Hess et al. (1974) zeigt die KBR eine sehr niedrige Sensitivität, da sie selbst bei einer Serumverdünnung von 1:16 nur 65% der Echinokokkose-Fälle richtig positiv anzeigte. Besonders schlecht war die Sensitivität der Methode mit 36% bei der alv.E., während sie bei den Fällen zyst.E. bei 77% lag. Nach Janitschke et al. (1981 b) zeigt die KBR hingegen mit 85% (17 von 20 gesicherten zyst.E.-Fällen) eine bessere Sensitivität. Sie liegt damit zwischen den Befunden von Hess et al. (1974) und Mannweiler et al. (1977), die für die KBR eine Empfindlichkeit von 89,8% herausfanden.-

Die von Hess et al. (1974) erzielte Spezifität der KBR war bei einem Titer von 1:16 mit 97,8% trotz Verwendung von Rohantigenen gut (nur 2,2% von 336 parasitenfreien Personen reagierten falsch positiv). Hingegen kommt es z.T. zu unspezifischen Reaktionen auf nicht durch Echinokokken bedingte Lungen- und Leberschädigungen. Deshalb sollte dieser Test nicht allein zur Diagnostikstellung bei der Echinokokkose herangezogen werden (Kagan 1974).-

Die Spezifität liegt nach Janitschke et al. (1981 b) bei 95% und entspricht damit der IHA und dem ELISA.-

Die KBR wird meistens mit der IHA und dem Indirekten Immunfluoreszenztest (IFAT) kombiniert eingesetzt. Sie eignet sich besonders gut zur postoperativen Verlaufskontrolle, da der KBR-Titer im Gegensatz zu anderen Testtitern nach erfolgreicher Operation schnell abfällt. Bleibt ein KBR-Titer jedoch über ca. 1/2 Jahr nach der Operation bestehen, muß mit weiteren Zysten gerechnet oder eine Sekundäransiedlung in Betracht gezogen werden (Mannweiler et al. 1977, Mannweiler et al. 1979, Sorice et al. 1966).-

Fluoreszenz-Antikörper-Test (FAT)

Coons et al. entwickelten 1941 ein Verfahren, mit dem es möglich wurde, fluoreszierende Farbstoffe (Fluochrome) an Antikörpermoleküle zu koppeln. Kommt es zu einer Antigen-Antikörper-Reaktion, so kann diese im Mikroskop mittels UV-Licht sichtbar gemacht werden.-

Dadurch wurde es möglich, mit dem Fluoreszenzmikroskop Krankheitserreger (Antigene) durch fluochromierte Antisera darzustellen und zu identifizieren.-

Erst durch die Modifikation des direkten zum indirekten FAT (IFAT) war auch der sinnvolle Einsatz dieser Methode in der Helminthologie gegeben (Hinz 1972).-

Das Prinzip besteht darin, daß ein bestehender Antigen-Antikörper-Komplex, der zusätzlich mit einem fluochromierten Antispezies-Gamma-Globulin reagiert, zum Fluoreszieren gebracht werden kann (Weller u. Coons 1954).

Bei dieser Doppelschichttechnik inkubiert man nun das Antigenmaterial (z.B. Scolices, Scolices-Extrakt oder ZF) zunächst mit nicht markiertem Antikörper (Patientenserum), durch Waschschrte erfolgt dann die Entfernung nicht gebundener Serumproteine. Anschließend wird der im positiven Falle entstandene Antigen-Antikörper-Komplex durch Überschichtung mit einem Fluochrom konjugierten Anti-Human-Gamma-Globulin sichtbar gemacht.-

Für die Echinokokkose-Diagnostik entwickelten Azevedo und Rombert 1964 den FAT mit ganzen, nativen Scolices. Ihre sehr guten Resultate bestätigten sich in weiteren Arbeiten (Kagan 1968).-

Beim Soluble Antigen Fluorescent Antibody Test (SAFA-Test) von Gore et al. (1970) dienten ZF und löslicher Scolices-Extrakt als Antigen.-

Ruitenbergh und van der Sleen (1972) verwendeten ganze Scolices auf Objektträgern, Hinz (1972) benutzte Paraffinschnitte.-

Nach Hess et al. (1974) entspricht die Sensitivität und Spezifität des IFAT fast der IHA. Janitschke et al. (1981 b) erreichten mit dem IFAT eine Sensitivität von 95% und mit der IHA im Mittel eine Sensitivität von 81,7%.

Die von ihnen ermittelte Spezifität für den IFAT lag bei 90%, für die IHA im Mittel bei 96,7%. -

Radioimmunoassay (RIA)

Der Solid-Phase-RIA hat sich unter den radioimmunologischen Techniken als die empfindlichste Methode bewährt. Das Testprinzip beruht auf der kompetitiven Bindungshemmung von ^{125}J odmarkierten Anti-Echinococcus-IgG-Antikörpern durch die im Patientenserum vorhandenen nicht markierten Echinococcus-IgG-Antikörper. Gereinigte Fraktionen aus Zystenflüssigkeit dienen als Antigene. Musiani et al. (1974) erzielten bei 91% der untersuchten Patientenseren mit diesem Verfahren diagnostisch positive Resultate, dabei wurden die Seren, die eine 50%ige oder höhere Bindungshemmung von ^{125}J odmarkierten IgG-Antikörpern zeigten, als diagnostisch signifikant betrachtet.-

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Das Prinzip des ELISA beruht darauf, daß sich Antigen-Antikörper-Reaktionen durch Markierung einer dieser beiden Komponenten mit einem Enzym sichtbar machen lassen, indem die Enzymaktivität durch eine Farbreaktion gemessen wird. Auf diese Weise können Antigene und Antikörper qualitativ und quantitativ bestimmt werden.-

Neben der Anwendung des ELISA bei immunhistochemischen Untersuchungen zum Nachweis von Antigenen oder Antikörpern in Geweben (Avrameas 1970) wird diese Technik in verschiedenen Variationen auch zum Nachweis von Antigenen oder Antikörpern in Flüssigkeiten eingesetzt. Diesbezüglich wurde der ELISA zuerst von Engvall und Perlmann für die quantitative Bestimmung von Antigenen (1971) bzw. Antikörpern (1972) beschrieben. Sie stellten 1971 beim Vergleich des ELISA mit der Radioimmunosorbent-Technic (RIST) für die quantitative Antigenbestimmung eine ähnlich hohe Sensitivität und Genauigkeit für beide Verfahren fest. Dabei lag die Nachweisgrenze im ng-Bereich/ml. Diese hohe Empfindlichkeit bestätigte sich auch bei der quantitativen Bestimmung spezifischer Antikörper mittels ELISA (Engvall u. Perlmann 1972). Auch hier erwies sich der ELISA so empfindlich (Nachweisgrenze unter 1 ng/ml) wie die entsprechenden Radioimmuntests. Das Testprinzip entsprach dabei ungefähr der Radioallergosorbent-Technic (RAST) von Wide et al. (1967). Bei dem dafür verwendeten Solid-Phase- (Festphasen-) ELISA werden alle Reaktionspartner durch Adsorption und Antigen-Antikörper-Bindung an die Oberfläche eines Reaktionsgefäßes (=feste Phase) gebunden, in dem dann die Farbreaktion abläuft.-

Als feste Phase eignet sich besonders Polystyrol, so daß die in der Serologie üblichen Mikrotiterplatten allgemein benutzt werden. Nicht gebundener Überschuß wird durch Waschen zwischen den einzelnen Reaktionsphasen wieder entfernt. Feigner stellte (1978 a) eine neue ELISA-Technik, den sogenannten Stick-ELISA vor. Darin werden Polystyrol-Rührstäbchen als Antigen-Träger verwendet, um quantitativ Antikörper gegen verschiedene Antigene nachzuweisen. Er testete dann (1978 b) diese Technik erfolgreich mit verschiedenen Krankheitserregern (*Treponema pallidum*, *Entamoeba histolytica*, *Toxoplasma gondii*, Röteln-Virus, *Schistosoma mansoni*, *Echinococcus granulosus* sowie *Echinococcus multilocularis*).-

Der Solid-Phase-ELISA wird unabhängig von der angewandten Test-Modifikation grundsätzlich in folgenden Teilschritten durchgeführt:

1. Adsorptionsreaktion (Beschichtung = Coating):

Ein Reaktionspartner (Antigen oder Antikörper) wird unspezifisch an die Oberfläche eines Reaktionsgefäßes (= feste Phase) gebunden.

2. Antigen-Antikörper-Reaktion: Zu dem adsorbierten Reaktanten wird die zu untersuchende Antigen- oder Antikörper-haltige Flüssigkeit gegeben.

Bei homologen Partnern kommt es jetzt zur Ausbildung eines nicht sichtbaren Antigen-Antikörper-Komplexes.

3. Konjugat-Reaktion: Das Konjugat, ein enzymmarkiertes Antiserum gegen spezifisches Antigen oder Spezies-Immunglobulin, wird hinzugegeben.

Es kommt jetzt nur dann zur Konjugat-Bindung, wenn zuvor eine Antigen-Antikörper-Reaktion stattgefunden hat.

4. Substrat-Reaktion: Das in dieser Phase zugesetzte Substrat wird durch das Enzym in ein farbiges Reaktionsprodukt umgesetzt, wenn es vorher zu einer Konjugat-Bindung gekommen ist.

5. Reaktionsstopp: Die Farbreaktion (Substratumsetzung) muß nach einer bestimmten Zeit beendet werden, damit vergleichbare Farbintensitätswerte erreicht werden.

6. Messung der Farbintensität.-

Die Vorteile des ELISA werden durch folgende Aspekte deutlich:

a) Es wird wenig Material benötigt (geringe Antigen- und Serummengen), deshalb können besonders auch gereinigte, hochspezifische Antigene, die teuer sind, ökonomisch eingesetzt werden (Engvall u. Perlmann 1972).-

Da nicht mehr als 5 µl Serum für den Test benötigt werden, kann die Blutprobe durch einfache Punktion der Fingerbeere gewonnen werden (Bout et al. 1976).-

- b) Es können beliebige Fraktionen gelöster Antigene eingesetzt werden.
- c) Der Test kann völlig ohne Apparaturen durchgeführt werden.
- d) Bei Verwendung von Mikrotiterplatten können auf einer Platte gleichzeitig 96 Einzeltests durchgeführt werden.
- e) Ein Untersucher kann ca. 800 Einzeluntersuchungen pro Tag bearbeiten.
- f) Eine Einzeluntersuchung ist mit ca. 0,30 DM Kosten für Material sehr billig.
- g) Es besteht Automatisierungsmöglichkeit des Tests (Bout et al. 1976).
- h) Die sehr hohe Empfindlichkeit (Nachweisgrenze im ng-Bereich/ml) dieser Methode entspricht den adäquaten Radioimmuntests, ohne jedoch die Strahlenbelastung der letztgenannten Verfahren.-

Die erreichte Sensitivität, Spezifität und Reproduzierbarkeit des ELISA liegt hoch:

Sorice et al. (1977) verglichen den ELISA, die IHA und die Gegenstrom-IEP in der Serodiagnose der zyst.E. des Menschen miteinander. Sie erreichten für den ELISA bei Testung von 31 E.g.-Seren eine Empfindlichkeit von 96,8%, d.h. 30 Seren waren richtig positiv. Hingegen waren es nur 93,5% bei der IHA und Gegenstrom-IEP. Von den 17 Kontrollseren der Patienten mit anderen Erkrankungen reagierten 16 richtig negativ und nur 1 Schistosomiasis-Fall falsch positiv; die 7 Seren der gesunden Kontrollpersonen zeigten alle eine richtig negative Reaktion im Test, d.h., daß die insgesamt erzielte Spezifität mit 95,8% ebenfalls sehr hoch lag.-

Farag et al. (1975) erreichten mit dem ELISA bei 43 gesicherten Fällen von zyst.E. beim Menschen eine fast 100%ige Sensitivität. Es gab keine Überlappungen zwischen diesen Fällen (43 Seren) und den gesunden Kontrollpersonen (10 Seren). Die Extinktionswerte stimmten mit der Anzahl der in der IEP beobachteten Banden und den FAT-Titern überein.-

Ein Vergleich der Ergebnisse bei Verwendung der gesamten ZF fertiler E.g.-Zysten vom Schaf (zentrifugiert, dialysiert und lyophilisiert nach Capron et al. 1970) mit den Resultaten bei Anwendung der gereinigten Antigenfraktion 5 ("arc 5") nach Capron et al. (1968) sowie Bout et al. (1974) zeigte, daß die Extinktionswerte, die mit Fraktion 5 erhalten worden waren, signifikant höher lagen (Farag et al. 1975). Weiterhin wurden von ihnen mögliche Kreuzreaktionen mit Seren von 6 Fällen alv.E. untersucht. Dabei traten zwischen den Fällen zyst.E. und alv.E. unter Verwendung von Antigenfraktion 5 signifikante Unterschiede auf. Dies zeigt, daß mit dem ELISA eine Differentialdiagnose vorgenommen werden kann, was auch von Bout et al. (1974) bestätigt werden konnte.-

Außerdem wurden von diesen Untersuchern auch Kreuzreaktionen mit anderen Parasitosen (Taeniasis, Schistosomiasis u. Fascioliasis) überprüft; wahrnehmbare Kreuzreaktionen konnten nur mit Fascioliasis-Seren beobachtet werden, wobei es jedoch unter Verwendung von Fraktion 5 nicht zu Überlappungen kam (Bout et al. 1976). Zu dem gleichen Ergebnis waren Farag et al. (1975) ebenfalls gekommen.-

Ambroise-Thomas und Desgeorges (1980) untersuchten 289 Humansenen im ELISA, um den diagnostischen Wert und die Grenzen dieses Tests für den Nachweis der zyst.E. des Menschen festzustellen. Bei einer Grenzwert-Extinktion von 1.5 kam es zu keiner Kreuzreaktion. Mittels ELISA ließen sich 42 von 52 Leberfällen (80,8%), alle 5 Lungenfälle (100%) und einer von vier Fällen mit anderer Lokalisation (25%) nachweisen. Daraus ergab sich eine Sensitivität von 78,7%, d.h. von 61 Fällen zyst.E. reagierten 48 richtig positiv. Außerdem zeigte sich eine gute Korrelation zum IFAT und zur IHA.-

Dottorini et al. stellten 1981 für den Röhrchen-ELISA eine Sensitivität von 82,5% fest. Sie testeten 63 chirurgisch nachgewiesene Fälle zyst.E. und 114 Seren von Echinokokkose-freien Personen im ELISA. Kreuzreaktionen wurden nicht untersucht. Bei ihrem Vergleich mit der IHA erhielten sie für letztere eine Sensitivität von 77,7%.-

Guisantes et al. untersuchten 1981 172 Humansenen, davon waren 76 präoperativ entnommene Seren von E.g.-Patienten (41 Leber-, 23 Lungenfälle u. 12 Fälle mit multipler E.g.-Infektion oder anderen Lokalisationen), bei denen die zyst.E. chirurgisch bzw. postoperativ bestätigt werden konnte sowie 96 Kontrollseren. Benutzt wurde die von Engvall und Perlmann (1971) beschriebene indirekte Methode. Von den 76 E.g.-Seren reagierten 73 Seren richtig positiv (Sensitivität= 96%). 94 der 96 Kontrollseren antworteten richtig negativ (Spezifität= 97,7%); die beiden falsch positiv reagierenden Seren stammten von Patienten mit *Taenia saginata*-Befall.-

Die Sensitivität des ELISA unterscheidet sich nach den Untersuchungen von Janitschke et al. (1981 b) mit 78,9% nicht wesentlich von der anderer Tests (IHA, LA und KBR); eine Ausnahme stellt der IFAT dar, der bei ihnen eine Empfindlichkeit von 95% erreichte. Sie liegt damit höher als in den Untersuchungen von Iacona et al. (1980), die 63,7% für den ELISA angaben, jedoch viel niedriger als bei Autoren, die bis zu 97% erzielten (Felgner 1978 c, Farag et al. 1975, Sorice et al. 1977). Für die Spezifität des ELISA ermittelten Janitschke et al. (1981 b) 95%.-

Mit 6 verschiedenen ZF's von E.g. aus drei Kontinenten wurden von Dottorini et al. (1983) 52 E.g.- und 10 E.m.-Seren im ELISA untersucht. Dabei stammte die E.g.-ZF vom Schaf und Pferd aus England, vom Rind aus der Schweiz, vom Schaf aus Italien sowie vom Menschen und Schaf aus Australien. Außerdem wurde E.m.-ZF von Baumwollratten aus Japan mit allen Seren untersucht.-

Getestet wurden 15 E.g.-Seren aus Italien, 37 E.g.-Seren aus Australien, 4 E.m.-Seren aus der Schweiz sowie 6 E.m.-Seren aus Japan gegen 15 negative Kontrollseren. Die stärkste Reaktion zeigten alle Seren mit dem E.g.-Antigen vom Schaf aus Italien. Das E.g.-Antigen vom Schaf aus Australien lag an zweiter Stelle. Es reagierte mit den australischen E.g.-Seren und mit den schweizerischen E.m.-Seren am stärksten. Das E.g.-Antigen vom Rind aus der Schweiz zeigte mit den schweizerischen und italienischen Seren eine ähnliche Reaktion. Das E.g.-Antigen vom Pferd aus England wurde nur mit 15 Seren aus Italien und den 15 Kontrollseren getestet. Es reagierte im Vergleich mit den anderen Antigenen am schwächsten, jedoch lassen sich wegen des unvollständigen Tests leider keine Schlüsse daraus ziehen. Das Ergebnis aller Humanserens im ELISA mit der experimentell in japanischen Baumwollratten produzierten ZF zeigte interessanterweise die höchste Sensitivität mit den E.m.-Seren aus der Schweiz und nicht etwa mit den E.m.-Seren aus Japan, die im Gegenteil eine sehr geringe Empfindlichkeit im ELISA aufwiesen, ähnlich der mit den E.g.-Seren erhaltenen. Trotz der sehr geringen Zahl der in dieser Arbeit untersuchten Seren zeigt sie doch, daß sowohl die E.g.- als auch die E.m.-ZF eine brauchbare Diagnose der Echinokokkose mittels ELISA ermöglicht. Dabei zeigte der ELISA mit der ZF vom Schaf aus Italien die höchste Sensitivität. Eine gute Empfindlichkeit erreichte der ELISA mit der ZF aus Australien, insbesondere mit der vom Menschen gewonnenen, mit allen E.g.- sowie den E.m.-Seren aus der Schweiz, während sich keine Signifikanz bei den japanischen E.m.-Seren zeigte. Eine fehlende Signifikanz wurde ferner beim Reaktionsverhalten der japanischen E.m.-Seren mit dem japanischen E.m.-Antigen im ELISA beobachtet, obwohl dieses Antigen mit allen anderen Seren annehmbare Reaktionen im ELISA aufwies. Die Antigene aus England und der Schweiz wurden von Dottorini et al. (1983) nur mit den italienischen Seren getestet, ausgenommen das schweizerische E.g.-Antigen, das noch zusätzlich mit den Seren aus der Schweiz untersucht wurde. Trotzdem meinen Dottorini et al. (1983), daß schon ihre wenigen Testergebnisse auf eine Möglichkeit der Anwendung dieser Antigene zur Echinokokkose-Diagnostik

beim Menschen hinweisen. Besonders eine 0.8 M Fraktion des E.g.-Antigens vom Rind aus der Schweiz zeigte mit den untersuchten Seren gute Reaktionen im ELISA. Noch mehr ließ die hohe Sensitivität des ELISA mit einer 0.8 M Fraktion der E.g.-ZF vom Schaf aus Italien dieses Antigen als sehr geeignet erscheinen. Dieses 0.8 M Präzipitat ist aus 3 IEP-Banden (vor allem Bande 7, in geringerem Umfang Bande 5) gewonnen worden (Tassi et al. 1981). Deshalb vermuteten Dottorini et al. (1983), daß genügend gereinigte Antigene bessere Ergebnisse als Vollantigene für die Diagnostik der Echinokokkose beim Menschen erwarten lassen, da die Antigenkomplexität der ZF im Augenblick der Reaktion zwischen den Antigenfraktionen eine Konkurrenz bewirken kann. Diese Arbeit bestätigte, daß die zwei Echinokokken-Arten (E.g. und E.m.) mit der weitesten geographischen Verbreitung eine beträchtliche Antigenähnlichkeit aufweisen.-

Der ELISA wurde auch von Speiser (1980) auf seine Eignung als Immundiagnostikum für die Echinokokkose und Filariasis mit dem IFAT, der IHA und der Gegenstrom-IEP vergleichend getestet. Als E.g.-Vollantigen diente ihm ZF von Zysten aus Rinderlungen. Dabei stellte sich der ELISA als empfindlichste Methode heraus, während seine Spezifität nicht so gut war. Kreuzreaktionen mit Filariasis-Seren waren am auffälligsten. Umgekehrt reagierten Seren von Patienten mit E.g.-Infektionen deutlich positiv mit einem Totalextrakt von *Dipetalonema viteae*. Diese Kreuzreaktionen konnten durch vorherige Absorption der Seren mit dem nicht korrespondierenden Antigen ohne signifikanten Sensitivitätsverlust vermieden werden.-

Mannweiler et al. (1979) testeten 107 E.g.- und 30 E.m.-Seren mit E.g.- und E.m.-Antigenen unter anderem auch im ELISA. Dabei zeichnete sich das E.m.-Antigen durch artspezifische Reaktionen mit den homologen Seren (E.m.) aus.- Zahner et al. verwendeten 1981 das kommerzielle Echinokokken-Antigen der Behringwerke AG (Marburg/L.) im ELISA in Anlehnung an die von Voller et al. 1976 beschriebene Methode. Als Normalseren dienten 50 Seren von gesunden Blutspendern (Europäern) der Blutbank Gießen. Ein Pool daraus wurde als negativer Standard verwendet. Als Testseren benutzten sie unter anderem 7 Seren von Patienten mit nachgewiesener Echinokokkose. Als positiver Standard diente das internationale Anti-Echinococcus-Referenzserum der WHO. Die im ELISA eingesetzte Serumkonzentration betrug 1:200. Dabei wurden mit diesem für die KBR auf den Markt gebrachten Antigen (Lipidextraktion, siehe Tab.1) in allen gesicherten Echinokokkose-Fällen Echinokokken-Antikörper nachgewiesen (Sensitivität des ELISA 100%).-

Ober eine gelungene serologische Differenzierung zwischen E.g.- und E.m.-Infektionen beim Menschen mittels ELISA berichteten Gottstein et al. (1983). Durch Affinitätschromatographie anhand von Kaninchen-Anti-ZF-IgG, kovalent an CNBr-Sepharose 4B gebunden, konnte eine Proteinfraktion ("Em 1"), die bei beiden Parasiten (E.g. und E.m.) vorkommende Antigene enthielt, aus einem Extrakt der E.m.-Larvenwand isoliert werden. Vom gleichen Ausgangsmaterial konnte außerdem eine andere Antigenfraktion ("Em 2") mit einer hohen Spezifität für E.m. durch Immunadsorption hergestellt werden.

Antigen "Em 1" erwies sich für den Nachweis von E.g.- und E.m.-Antikörpern gleich empfindlich, während die Antigenfraktion "Em 2" größere Spezifität für E.m. zeigte. So konnte in 95% von 57 gesicherten Echinokokkose-Fällen beim Menschen (31 Fälle alv.E. sowie 26 Fälle zyst.E.) durch simultane Anwendung beider Antigenfraktionen und Vergleich ihrer Reaktivität im ELISA eine korrekte serologische Differentialdiagnose der beiden Arten durchgeführt werden.-

3. Aufgabenstellung

Wie dargestellt wurde, treten bei *Echinococcus granulosus* (E.g.) zahlreiche intraspezifische Varianten auf, die heute allgemein als Stämme angesehen werden.-

Deshalb stellte sich die Aufgabe, E.g.-Antigene ausgewählter Zwischenwirt-Endwirt-Zyklen aus verschiedenen Teilen der Welt auf ihre Eignung für den serologischen Nachweis der zystischen Echinokokkose (zyst.E.) des Menschen zu prüfen.-

In meinen Untersuchungen habe ich 10 verschiedene, aus Zystenflüssigkeit (ZF) ausgesuchter Zwischenwirte und Länder gewonnene E.g.-Antigene mit 123 Humansen und dem Echinokokkose-Referenzserum des Bundesgesundheitsamtes (BGA) im Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) auf ihre Eignung für die Serodiagnostik der zyst.E. des Menschen geprüft.-

Als Bewertungsmaßstab für die einzelnen E.g.-Antigene diente mir die mit ihnen erreichte Sensitivität und Spezifität des ELISA.-

4. Material und Methode

Die für den ELISA verwendeten Medien, Chemikalien, Mikrotiterplatten sowie sonstigen Materialien und Geräte werden im Zusammenhang mit dem ELISA-Programm abgehandelt (siehe S.42 u. Tab.6).-

4.1. Antigene

Ich habe 6 nicht kommerziell und 4 kommerziell hergestellte Echinokokken-Antigene, die aus der Flüssigkeit fertiler E.g.-Zysten (ZF) gewonnen worden waren, im ELISA auf ihre Eignung für den serologischen Nachweis der zyst.E. beim Menschen geprüft.-

Alle kommerziellen Antigene lagen lyophilisiert vor, für die nicht kommerziellen Antigene galt dies nur zum Teil.-

4.1.1. Nicht kommerzielle Echinokokken-Antigene (Tab.1)

- a) Das E.g.-Antigen vom Kamel aus Ägypten (KA) war aus ZF durch Zentrifugation bei 300 g über 20 Min. und dann bei 100.000 g über 60 Min. hergestellt und dann lyophilisiert worden.
- b) Das E.g.-Antigen vom Schaf aus der Türkei (ST) enthielt den sogenannten "Hydatidensand" und lag mir lyophilisiert vor. Nach Resuspendierung wurde es im Glashomogenisator homogenisiert und dann wie oben zentrifugiert.
- c) Beim E.g.-Antigen vom Schaf aus Argentinien (SA) handelte es sich um dialysiertes und lyophilisiertes Material (Pan American Health Organization).

Die E.g.-Antigene vom

d) Rind aus der Schweiz (RS),

e) Pferd aus England (PE) und vom

f) Menschen aus Kenia (MK) wurden lediglich zentrifugiert (s.o.).-

Bei allen nicht kommerziellen E.g.-Antigenen sind in der ZF vorhandene korpuskuläre Bestandteile (wie z.B. Scolices, Brutkapseln, Keimschicht- und Kutikulaanteile sowie Kalk) abzentrifugiert worden.-

4.1.2. Kommerzielle Echinokokken-Antigene (Tab.1)

An kommerziellen E.g.-Antigenen prüfte ich die auf dem mitteleuropäischen Markt vorhandenen:

- a) Das "Echinokokken-Antigen" der Behringwerke (BE) wird für die KBR auf den Markt gebracht und aus E.g.-ZF vom Schaf und Rind aus Jugoslawien und Nordafrika gewonnen. Es handelt sich um eine mittels Lipidextraktion gereinigte E.g.-ZF.-
- b) Das "Echinococcus-granulosus-Antigen" von bio Mérieux (BM) wird für die IEP angeboten und stammt aus ZF vom Schaf. Angaben über das Herkunftsland liegen mir nicht vor.-
- c) "Antigène hydatique" vom Institut Pasteur (PA) wird für die IEP und KBR hergestellt und stammt aus E.g.-ZF vom Schaf aus Portugal, Algerien und Tunesien.-
- d) Das "Echinokokken-Antigen" vom Institut Virion (VI) wird für die KBR produziert und aus E.g.-ZF von Rindern (Schlachthof Zürich) gewonnen.-

Angaben über eventuell vorhandene korpuskuläre Bestandteile liegen mir für die kommerziellen E.g.-Antigene nicht vor.-

Alle 10 Antigene waren in gebrauchsfertig gelöstem Zustand bei -20°C aufbewahrt worden.-

Die für den ELISA optimale Antigenverdünnung wurde jeweils vor dem eigentlichen Test (= Basisprogramm) in einem Chequerboard-ELISA ermittelt (siehe 4.3.).-

4.2. Seren

Um die Eignung der 10 verschiedenen E.g.-Antigene für den serologischen Nachweis der zyst.E. beim Menschen im ELISA zu prüfen, wurden 123 Humanseren sowie das Echinokokkose-Referenzserum des BGA mit dieser Technik untersucht. Alle Seren sind 30 Min. bei 56°C inaktiviert worden. Die Lagerung der Seren erfolgte bei -70°C . Während des Versuchszeitraumes wurden sie in kleine Mengen portioniert (ca. 500 μl) bei -20°C aufbewahrt. Die optimale Verdünnung jeweils aller Seren für den ELISA mit je einem der 10 Antigene wurde vorher anhand einer Chequerboard-Titration ermittelt (siehe 4.3.).-

4.2.1. Seren von Patienten mit zystischer Echinokokkose (Gruppe I= 25 Seren, Tab.2)

In dieser Gruppe habe ich 25 Seren von Patienten aus einem Zeitraum von 1977-1982 untersucht. Bei 16 dieser Patienten konnte die Diagnose postoperativ parasitologisch bestätigt werden, bei den übrigen 9 Fällen erfolgte eine serologische Diagnosestellung mittels IFAT, IHA, KBR und ELISA.- 13 Seren waren vor (bis max. 35 Tage) und 9 nach (14 Tage bis mehrere Jahre) der Operation entnommen worden, ein Serum war am Operationstag gewonnen worden, bei 2 Seren ist der Entnahme- bzw. Operationstermin nicht genau bekannt.-

Die Herkunftsländer der 15 weiblichen und 10 männlichen Patienten sind Ägypten (ET), Deutschland (D), Frankreich (F), Griechenland (GR), Jugoslawien (YU), Libanon (RL), Iran (IR), Syrien (SYR) und die Türkei (TR).- 22 dieser Patienten hatten meist eine oder mehrere Zysten in der Leber, bei 3 von ihnen waren zusätzlich noch andere Organe (Milz, Pankreas, Lunge) befallen. 2 Patienten hatten andere E.g.-Lokalisationen (multiple Zysten im Becken; Lunge), und in einem Fall ist das betroffene Organ unbekannt.-

4.2.2. Seren von Patienten mit anderen Helminthen-Infektionen (Gruppe II= 25 Seren, Tab.3)

In der Gruppe II wurden 25 Seren parasitologisch direkt nachgewiesener und/oder serologisch erfaßter Fälle (IHA, IFAT, ELISA) anderer Helminthen-Infektionen unter denselben Bedingungen gleichzeitig mit den Echinokokkose-Seren im ELISA untersucht, um mögliche und z.T. auch in der Literatur beschriebene Kreuzreaktionen (Zystizerkose, Filariasis u.a.) zu erfassen.- Seren von Patienten mit folgenden Parasitosen wurden getestet:

1 x Askariasis; 1 x Askariasis + Ankylostomiasis; 1 x Askariasis + Trichuriasis; 5 x Filariasis; 2 x Ankylostomiasis; 1 x Hymenolepiasis; 2 x Oxyuriasis; 4 x Schistosomiasis; 1 x Strongyloidiasis + Ankylostomiasis; 2 x Toxocariasis + Askariasis; 1 x Trichinelliasis; 1 x Trichuriasis sowie 3 x Zystizerkose.-

4.2.3. Seren von Patienten mit Protozoen-Infektionen (Gruppe III= 25 Seren, siehe Tab.4)

In der Gruppe III wurden 25 Seren parasitologisch direkt nachgewiesener und/oder serologisch erfaßter Fälle (IFAT; IHA; Serofarbstest nach Sabin-Feldman= SFT) von Protozoen-Infektionen unter denselben Bedingungen gleichzeitig mit den Echinokokkose-Seren im ELISA untersucht, um mögliche falsch positive Reaktionen aufzuspüren.-

Seren von Patienten mit folgenden Infektionen wurden getestet:

8 x Amöbiasis; 3 x Chagas-Krankheit; 4 x Leishmaniasis; 5 x Malaria sowie 5 x Toxoplasmose.-

4.2.4. Seren von klinisch gesunden Personen (Gruppe IV= 48 Seren)

In der Gruppe IV wurden 48 Seren von klinisch gesunden Deutschen, bei denen kein Hinweis oder Verdacht auf eine Parasitose bestand und die frei von Antikörpern gegen Echinokokken (IHA u. IFAT) sowie Toxoplasma gondii (SFT) waren, unter denselben Bedingungen gleichzeitig mit den Echinokokkose-Seren im ELISA untersucht, um anhand dieser Seren, wie auch mit den beiden vorgenannten Gruppen (II u. III), die Spezifität des ELISA mit den verschiedenen Antigenen zu prüfen.-

4.2.5. Echinokokkose-Referenzserum des Bundesgesundheitsamtes (BGA) (siehe Tab.5)

Das BGA hat ein Referenzserum für die Serodiagnostik der Echinokokkose beim Menschen hergestellt. Da bei E.g. weltweit derartig viele Varianten auftreten, stellt sich unter anderem die Frage, ob dieses Referenzserum in verschiedenen Endemiegebieten zum Einsatz kommen kann oder ob es mit einigen Antigenen nicht reagiert. In bezug auf die zyst.E. habe ich dies in meinen Untersuchungen mit 10 verschiedenen Antigenen für bestimmte Zwischenwirt-Endwirt-Zyklen aus verschiedenen Teilen der Welt bei Patienten vor allem aus dem Mittelmeerraum zu klären versucht, indem ich das Referenzserum zusammen mit den anderen 123 Humanseren (Gruppe I, II, III u. IV) im ELISA getestet habe.-

Bei dem Echinokokkose-Referenzserum handelt es sich um ein Poolserum von Patienten mit zyst.E. aus Mittelmeerländern. Weitere serologische Eigenschaften dieses Serums sind aus Tab.5 ersichtlich.-

4.3. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Um die in dieser Arbeit gestellte Aufgabe lösen zu können, habe ich wegen der am Ende des Kapitels über die serologische Diagnostik bereits geschilderten Vorteile des ELISA dieses Verfahren benutzt. Dabei mußte ich zunächst den ELISA durch Vortests für die hier verwendeten Antigene, Seren, ELISA-Medien (Puffer, Waschlösung, H_2SO_4 , Substrat und Konjugat) sowie Mikrotiterplatten aufbauen. Grundvoraussetzung war, daß im laufenden Vor- und Basisprogramm keine Arbeitsmaterialien anderer Fabrikate oder Chargen benutzt wurden und daß das gesamte ELISA-Programm von nur einer Person durchgeführt wurde, um Materialunterschiede sowie individuell bedingte Schwankungen beim Versuchsablauf weitgehend zu vermeiden.-

Durchführung des ELISA

Der ELISA wurde von mir in der für Mikrocomputer programmierbaren, standardisierten Technik der Laborgruppe Medizinische Parasitologie im Robert-Koch-Institut (RKI) des BGA nach den Grundlagen der London School, des Theodor Bilharz Research Institute (TBRI) Kairo sowie der Arbeitsgruppe Virologie/Parasitologie des RKI durchgeführt (Janitschke et al. 1981 a, Janitschke et al. 1982). Dabei habe ich das Verfahren jedoch für die hier interessierende Aufgabenstellung modifiziert und vereinfacht.-

Grundsätzlich handelt es sich um einen im Prinzip schon im Abschnitt 2.4.3. beschriebenen Solid-Phase- (Festphasen-) ELISA.-

Die für den ELISA verwendeten Medien sind in Tab.6 aufgeführt.-

Die Antigenbeschichtung der Polystyrol-Mikrotiterplatten (Dynatech Microtiter M 29 AR) erfolgte mit den gebrauchsfertig gelösten und dann für den ELISA mit einem ELISA-Coating-Puffer (pH 9,6) verdünnten Antigenen (ca. 18 Stunden bei $+4^{\circ}$ bis $+6^{\circ}C$).-

Die Inkubation für eine mögliche Antigen-Antikörper-Reaktion (2 Stunden unter Lichtabschluß bei Zimmertemperatur) wurde nach vorherigem Waschkvorgang (3x3 Min. mit einem Mikrotiterplatten-Waschgerät der Firma Dynatech und der ELISA-Waschlösung) mit den durch einen ELISA-Inkubationspuffer (pH 7,6) verdünnten Seren durchgeführt.-

Nach Wiederholung des oben beschriebenen Waschkvorgangs wurde dann die Inkubation mit dem Konjugat durchgeführt (3 Stunden unter Lichtabschluß bei Zimmertemperatur). Als Konjugat wurde das Peroxydase konjugierte GOAT-ANTI-HUMAN-IgG verdünnt mit dem ELISA-Inkubationspuffer (pH 7,6) benutzt.-

Nach dem üblichen Waschvorgang wurde das kurz vor Gebrauch angesetzte Substrat zugegeben. Die Substrat-Reaktion lief 30 Min. unter Lichtabschluß bei Zimmertemperatur, wurde dann mit H_2SO_4 (8 N) gestoppt und nach weiteren 10 Minuten (Lichtabschluß, Zimmertemp.) im Photometer "Multiscan" der Fa. Flow bei 492 nm gemessen.-

Austestung des optimalen Reaktionsablaufes

Für die Durchführung des ELISA wurde zunächst eine Vorprüfung vorgenommen. Diese Vortests dienten dazu, die Funktionsfähigkeit des Systems zu erproben und die nötigen Verdünnungen der Reaktionspartner abschätzen zu können. Dafür wurden ein positives und ein negatives Serum in 8 Verdünnungen (1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, 1:640 u. 1:1280) geprüft und jeweils eine niedrige und eine hohe Antigen- (1:100, 1:1000) sowie Konjugatverdünnung (1:500, 1:3000) getestet. Diese Vortests wurden zweimal (mit Antigen KA u. PE) durchgeführt. Dabei zeigte sich, daß bei dem angewandten ELISA-System alle Reaktionspartner je nach Verdünnungsstufe miteinander reagierten.- Jedes der in Tab.1 aufgeführten Antigene wurde dann in einer Serie von sogenannten Chequerboard-Titrations untersucht. Dabei wurden je 5 Antigen- (1:300, 1:450, 1:600, 1:900, 1:1200) und Konjugatverdünnungen (1:500, 1:1000, 1:1500, 1:2000, 1:3000) sowie 8 Serumverdünnungen (1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, 1:640, 1:1280, 1:2560) gegeneinander ausgetestet. Dieser Test diente zur Bestimmung der optimalen Verdünnung der Reaktionspartner, d.h. bei welchen Verdünnungen eine optimale Differenzierung zwischen positiven und negativen Seren erreicht werden konnte. Bei der Auswertung der Reaktionen wurde der Quotient aus dem positiven und negativen Extinktionswert jeder Verdünnungskombination berechnet. Anschließend erfolgte aus diesen Quotienten die Errechnung der Mittelwerte ($\bar{x}$), Standardabweichungen (SD) und Variationskoeffizienten (CV) für jede Antigen- und Konjugatverdünnung.- In drei aufeinanderfolgenden Schritten wurden dann die optimalen Verdünnungen bestimmt:

a) Optimale Konjugatverdünnung:

Ausgewählt wurde die Konjugatverdünnung mit dem höchsten $\bar{x}$ bei kleinstem CV.-

b) Optimale Antigenverdünnung:

Innerhalb der optimalen Konjugatverdünnung wurde gleichfalls die Antigenverdünnung mit dem höchsten $\bar{x}$ bei kleinstem CV ausgesucht.-

c) Optimale Serumverdünnung:

Innerhalb der optimalen Konjugat- und Antigenverdünnung erfolgte dann die Auswahl der Serumverdünnung, die mir optimal erschien; sie lag gewöhnlich im Bereich zwischen 1:160 und 1:640. Es handelte sich dabei meist nicht um den höchsten Quotienten, damit der Test bei höheren Serumverdünnungen nicht auf ein zu niedriges Niveau unter einen Extinktionswert von 0.5 für das positive Serum absinken konnte.-

Der nächste Schritt bei der Auswertung des ELISA-Programmes war die Grenzwert-Bestimmung. Durch diesen Test wurde festgelegt, bei welchem Extinktionswert ein Serum negativ oder positiv zu bewerten ist (=Grenzwert). Dazu wurden jeweils für jedes Antigen getrennt 48 Seren (Gruppe IV) von klinisch gesunden Personen ohne Verdacht auf eine Parasitose in den vorher mittels Chequerboard-Titration bestimmten optimalen Verdünnungen im ELISA getestet. Die Grenzwert-Errechnung erfolgte dann aus $\bar{x} + 2 \text{ SD}$ der 48 negativen Seren.-

Extinktionswerte $< \bar{x} + 2 \text{ SD}$ wurden als serologisch negativ und
Extinktionswerte $\geq \bar{x} + 2 \text{ SD}$ als serologisch positiv bewertet.-

Basisprogramm

Als letzter Schritt im ELISA-Programm folgte der Test mit den in Tab.2-4 aufgeführten Gruppen von Seren (I, II, III) im sogenannten "Basisprogramm". Jede erste Reihe einer Mikrotiterplatte diente für den Nullabgleich des Photometers ("blanking"), die zweite Reihe für die Pufferkontrolle (Puffer statt Serum) und in den weiteren Reihen wurden dann im Doppelansatz die einzelnen Seren geprüft.-

Alle mit dem Photometer ermittelten Extinktionen (1240 Werte) wurden zunächst für jedes Antigen getrennt (je 124 Extinktionen) unter Benutzung der im Fachgebiet Biometrie am Fachbereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin vorhandenen Software mit einem Rechner (Siemens 7.541 D) graphisch ausgewertet:

Die Darstellung der Sensitivität und Spezifität des ELISA erfolgt in , b.1-10 für jedes der 10 Antigene getrennt.-

In zwei weiteren Abbildungen (Abb.11 u.12) wird die Sensitivität und Spezifität des ELISA mit den verschiedenen Antigenen direkt verglichen.-

5. Ergebnisse

Die mit jedem Antigen im ELISA für die einzelnen Serengruppen und das Echinokokkose-Referenzserum des BGA gewonnenen Resultate wurden unter Angabe der jeweilig eingesetzten optimalen Reaktantenverdünnungen (A= Antigen-, S= Serum- und K= Konjugatverdünnung) sowie des jeweiligen Grenzwertes (GW) in bezug auf ihre Sensitivität und Spezifität dargestellt.-

Antigen KA wurde aus ZF vom Kamel aus Ägypten hergestellt (Tab.1).

In der Chequerboard-Titration wurden folgende optimale Verdünnungen mit diesem Antigen ermittelt: A= 1:600, S= 1:320 sowie K= 1:500.

Der Grenzwert für das ELISA-Basisprogramm betrug 0.192. Die Extinktionen für die 124 verschiedenen Seren sind in Abb.1 vergleichend dargestellt.-

Bei Verwendung dieses Antigens reagierten 24 von 25 Echinokokkose-Seren richtig positiv, die Sensitivität beträgt daher 96% (Tab.7).

Der Prozentsatz der richtig negativen Reaktionen, also die Spezifität wurde an den je 25 Seren der Gruppen II und III sowie an den 48 Seren der Gruppe IV geprüft. Sie betrug bei diesen Gruppen 40, 68 bzw. 96% (Tab.8).-

Antigen ST wurde aus ZF vom Schaf aus der Türkei hergestellt (Tab.1).

In der Chequerboard-Titration wurden folgende optimale Verdünnungen für den ELISA mit Antigen ST ermittelt: A= 1:900, S= 1:320 sowie K= 1:500.

Der Grenzwert für das ELISA-Basisprogramm betrug 0.136. Die Extinktionen für die 124 Seren sind in Abb.2 vergleichend dargestellt.-

Bei Verwendung dieses Antigens wurde eine Sensitivität von 100% (Tab.7) ermittelt. Die Spezifität, geprüft an den Serengruppen II, III und IV, betrug 52, 84 bzw. 96% (Tab.8).-

Antigen SA wurde aus ZF vom Schaf aus Argentinien gewonnen (Tab.1).

Im Chequerboard wurden folgende optimale Verdünnungen ermittelt:

A= 1:450, S= 1:320 und K= 1:1500. Der Grenzwert betrug 0.172.

Die Extinktionen sind in Abb.3 vergleichend dargestellt.-

Mit diesem Antigen wurde eine Sensitivität von 100% (Tab.7) sowie eine an den Serengruppen II, III und IV geprüfte Spezifität von 68, 88 bzw. 94% (Tab.8) erreicht.-

Antigen RS wurde aus ZF vom Rind aus der Schweiz hergestellt (Tab.1). Im Chequerboard wurden folgende optimale Verdünnungen ermittelt: A= 1:900, S= 1:320 und K= 1:500. Der Grenzwert betrug 0.417. Die Extinktionen sind in Abb.4 vergleichend dargestellt. Mit diesem Antigen wurde im ELISA eine Sensitivität von 88% erreicht (Tab.7). Die Spezifität betrug 84, 100 bzw. 98% (Tab.8).-

Antigen PE wurde aus ZF vom Pferd aus England gewonnen (Tab.1). Die für den ELISA mit Antigen PE ermittelten optimalen Arbeitsverdünnungen betrugen für A, S und K = 1:450, 1:320 und 1:500. Der Grenzwert betrug 0.314. Abb.5 zeigt die Extinktionen im Vergleich. Der ELISA erreichte mit diesem Antigen eine Sensitivität von 100% (Tab.7). Die Spezifität lag bei 60, 92 und 96% (Tab.8).-

Antigen MK wurde aus ZF vom Menschen aus Kenia hergestellt (Tab.1). Die optimalen Arbeitsverdünnungen lagen bei A= 1:600, S= 1:640 u. K= 1:1500. Der Grenzwert lag bei 0.238. Die vergleichende Darstellung der Extinktionen erfolgte in Abb.6. Die Sensitivität betrug 84% (Tab.7) und die Spezifität erreichte Werte von 80, 68 und 98% (Tab.8).-

Antigen BE (Behringwerke) wird für die KBR hergestellt und aus ZF vom Schaf und Rind (Jugoslawien, Nordafrika) gewonnen (Tab.1). Die optimalen Arbeitsverdünnungen betrugen für A= 1:600, S= 1:160 und K= 1:500. Der Grenzwert lag mit 0.429 am höchsten. Abb.7 zeigt die Extinktionen im Vergleich. Die Sensitivität des ELISA betrug nur 24% (Tab.7). Für die Spezifität wurden 72, 80 bzw. 96% ermittelt (Tab.8).-

Antigen BM (bio Mérieux) wird für die IEP produziert und stammt aus ZF vom Schaf (Herkunftsland unbekannt) (Tab.1). Das Optimum von A, S und K wurde mit 1:900, 1:320 und 1:1000 festgestellt. Der Grenzwert betrug 0.219. Den Vergleich der Extinktionen zeigt Abb.8. Die Sensitivität betrug 100% und die Spezifität lag bei 36, 84 bzw. 96% (Tab.7 und 8).-

Antigen PA (Institut Pasteur) wird für die IEP und KBR auf den Markt gebracht und aus ZF vom Schaf (Portugal, Algerien, Tunesien) gewonnen (Tab.1). Für A, S und K wurde das Optimum bei 1:900, 1:320 und 1:1500 ermittelt. Der Grenzwert lag bei 0.211.

Abb.9 zeigt den Vergleich der Extinktionen.

Die Sensitivität des Tests betrug 100% (Tab.7) und die Spezifität 76, 92 u. 98% (Tab.8).-

Antigen VI (Institut Virion) wird für die KBR angeboten und aus ZF von Rindern (Schlachthof Zürich) hergestellt (Tab.1).

Die optimalen Arbeitsverdünnungen lagen bei A= 1:300, S= 1:320 u. K= 1:500. Der Grenzwert wurde bei 0.116 festgesetzt.

Abb.10 gibt die vergleichende Darstellung der Extinktionen wieder.

Die Empfindlichkeit des ELISA betrug 96% (Tab.7) und die Spezifität lag bei 60, 96 bzw. 94% (Tab.8).-

Zur besseren Übersicht wurde die Sensitivität (Prozentsatz der richtig positiven Reaktionen) des ELISA mit den 10 getesteten Antigenen in der Abb.11 im direkten Vergleich dargestellt, indem von allen mit den Echokokkose-Seren (Gruppe I) erhaltenen Extinktionen die jeweiligen Grenzwertextinktionen subtrahiert und dann als Extinktionsdifferenzen ausgedruckt wurden.-

Die Abbildung zeigt, daß bei 5 Antigenen (ST, SA, PE, BM, PA) alle Extinktionen über und bei 4 Antigenen (KA, RS, MK, VI) ein bis vier von je 25 Extinktionswerten unter dem Grenzwert liegen. Bei einem Antigen sind die Verhältnisse umgekehrt: 6 Extinktionen liegen über dem Grenzwert und sind damit positiv, während alle restlichen 19 Extinktionswerte darunter liegen, also negativ sind (Antigen BE).-

Die vergleichende Darstellung der Spezifität (Prozentsatz der richtig negativen Reaktionen) des ELISA mit den 10 getesteten Antigenen erfolgte aufgrund der hohen Anzahl von Extinktionswerten (für die Gruppen II, III und IV insgesamt 980 Werte) mittels Histogramm:

Für jedes Antigen geben jeweils drei Säulen (Gruppe II, III und IV) den Prozentsatz der richtig negativen Reaktionen an (Abb.12).-

6. Diskussion

In dieser Arbeit habe ich den Einfluß 10 verschiedener E.g.-Antigene, die aus ZF gewonnen worden waren, auf die Sensitivität und Spezifität des ELISA für den Nachweis der zyst.E. des Menschen untersucht.-

Die Antigene unterscheiden sich hinsichtlich des Zwischenwirtes und/oder des Herkunftslandes bzw. der Herstellungsart.-

Um die Sensitivität zu prüfen, wurden 25 Seren von Patienten mit zyst.E. im ELISA mit den 10 Antigenen getestet.-

Bei 16 dieser Patienten konnte die Diagnose postoperativ durch den direkten Parasitennachweis gesichert werden, bei den übrigen 9 Fällen erfolgte eine serologische Diagnosestellung mittels IFAT, IHA, KBR und ELISA.-

Die Herkunftsländer der Patienten sind Ägypten, Deutschland, Frankreich, Griechenland, Jugoslawien, Libanon, Iran, Syrien und die Türkei.-

22 dieser Patienten hatten einen Leberbefall, bei 3 von ihnen waren außerdem noch andere Organe (Milz, Pankreas, Lunge) betroffen. 2 Patienten zeigten andere Lokalisationen der E.g.-Zyste bzw. -Zysten (Lunge, Becken) und bei einem Patienten ist das betroffene Organ unbekannt.-

Das Antigen BE (Behringwerke), das aus ZF vom Schaf und Rind (Jugoslawien, Nordafrika) gewonnen und für die KBR auf den Markt gebracht wird, erwies sich als nicht verwendbar: nur 6 der 25 Echinokokkose-Seren wurden auch nach Wiederholung des Tests richtig positiv erkannt. Dies entspricht einer Sensitivität von 24%. Die Spezifität liegt mit 72, 80 bzw. 96% für die Serumgruppen II, III und IV anscheinend im akzeptablen Bereich, ist jedoch wegen des Versagens bei den Echinokokkose-Fällen nicht brauchbar bzw. bewertbar. Die Ursache für das Versagen ist eventuell in der besonderen Vorbehandlung dieses Antigens mittels Lipidextraktion zu suchen.-

Die anderen kommerziellen Antigene (bio Mérieux, Pasteur, Virion) werden ebenfalls nicht für den ELISA, sondern für die IEP (bio Mérieux), IEP und KBR (Pasteur) sowie KBR (Virion) hergestellt. Der ELISA zeigte mit diesen Antigenen jedoch eine hohe Sensitivität (100, 100 und 96%).-

Im Widerspruch zu meinem Ergebnis mit dem E.g.-Antigen der Behringwerke steht die Untersuchung von Zahner et al. (1981), die mit diesem Antigen im ELISA, in Anlehnung an die von Voller et al. (1976) beschriebene

Methode, eine Sensitivität von 100% erzielen (7 Seren von Patienten mit nachgewiesener Echinokokkose waren sämtlich positiv). Der von ihnen verwendete Mikro-ELISA (nach Voller et al. 1976) ist mit der von mir angewandten Methode durchaus vergleichbar.-

Durch weitere Untersuchungen kann eventuell das in meinen Tests aufgetretene Versagen dieses Antigens geklärt werden.-

Bei fünf Antigenen (ST, SA, PE, BM, PA) waren die ermittelten Extinktionswerte alle größer bzw. gleich dem jeweiligen Grenzwert (Sensitivität= 100%). Bei den übrigen vier Antigenen lagen ein bis vier von je 25 Extinktionen unter dem entsprechenden Grenzwert (Sensitivität= 84-96%).-

Das Serum einer Türkin (Gruppe I, Nr.15), die eine mehrkammerige E.g.-Zyste in der Lunge hatte, reagierte nur mit fünf von neun verwendbaren Antigenen (ST, SA, PE, BM, PA) im ELISA positiv (= 56%), obwohl die zyst.E. der Lunge bei dieser Patientin parasitologisch nachgewiesen worden war.

Auch bei den schon vorausgegangenen serologischen Tests waren die Reaktionen dieses Serums z.T. ausgeblieben (IFAT- und KBR-Titer= 1:40, IHA und ELISA= falsch negativ).-

Dieses Ergebnis steht in Obereinstimmung mit der Erfahrung, daß E.g.-Zysten in der Lunge meist eine geringere Antikörperproduktion als z.B. solche in der Leber verursachen und deshalb serologisch schlechter erfaßbar sind (Bähr 1981). Die Ursache dafür soll einerseits in der häufigen Sterilität von Zysten in der Lunge (Bähr 1981), andererseits in der Lokalisation und wohl auch im Wandaufbau der Zyste liegen (Coltorti u. Varela-Díaz 1976). Auch Iacona et al. (1980) fanden bei Lungenbefall mit E.g. eine geringere ELISA-Sensitivität (48,5%) als bei entsprechendem Befall der Leber (70,5%) oder etwa bei multipler Echinokokkose (78,6%). Ähnliche Ergebnisse erzielten sie mit der IHA und der DD.-

Todorov et al. (1979) wiesen darauf hin, daß die Qualität der Zystenflüssigkeit sowie der Zystenwand den Verlauf der Antikörper-Antwort bei der Lungen-echinokokkose beeinflussen und daß außerdem eine Zunahme der Zystenanzahl mit einem Anstieg der positiven serologischen Reaktionen korreliert.

Ähnliche Resultate erzielten Capron et al. (1970) mittels IEP.-

Das Serum einer Syrerin (Gruppe I, Nr.14), die eine serologisch bestätigte (IFAT-Titer 1:40; IHA-Titer 1:2048), jedoch parasitologisch nicht untersuchte zyst.E. der Leber hatte, reagierte mit zwei Antigenen (RS, MK) negativ. Mit denselben Antigenen reagierte auch das Serum eines Libanesen (Gruppe I, Nr.25), der sowohl eine serologisch (IFAT-Titer 1:40; IHA-Titer 1:256) als auch parasitologisch gesicherte zyst.E. der Leber hatte, negativ. Schließlich reagierte noch das Serum einer Türkin (Gruppe I, Nr.23) mit serologisch (IFAT-Titer 1:160), aber nicht parasitologisch nachgewiesenem E.g.-Befall der Leber mit Antigen MK negativ.

Die geringere Reaktivität bei diesen 4 Patienten läßt sich im Falle der Lungenechinokokkose durch die bereits in der Literatur beschriebenen schwachen Reaktionen bei derartiger Lokalisation hinreichend erklären, jedoch sind für die fehlenden Reaktionen der drei anderen Seren zunächst keine Ursachen zu erkennen.-

Falsch negative Reaktionen können in Einzelfällen durch ein Antikörpermangelsyndrom verursacht werden (Janitschke et al. 1981 b). Bei den oben genannten Patienten kann dies jedoch nicht der Fall sein, da sie mit den meisten Antigenen positiv reagierten.-

Eine weitere Erklärung für falsch negative Reaktionen ist die mehr oder minder starke Durchlässigkeit der Zystenwand, die die Diffusionsmöglichkeit von Zystenflüssigkeit in das umliegende Wirtsgewebe beeinflußt. Diese Diffusion ermöglicht erst die Induktion einer nachweisbaren Antikörper-Antwort des Wirtes. Coltorti und Varela-Díaz vermuteten 1974, daß die Germinativschicht als Barriere für Makromoleküle dient.-

Lascano et al. (1975) nahmen an, daß das Tegument dieser Schicht das einzige physikalische Hindernis für die Penetration von Makromolekülen darstellt.- Die meisten Patienten mit "hyalinen" E.g.-Zysten, das sind glasklare Zysten mit transparenter Zystenflüssigkeit, deren Parasitenmembran bei makroskopischer Untersuchung keine Alteration zeigt und völlig intakt ist (Yarzabal et al. 1974), zeigen mit Zystenflüssigkeit in verschiedenen immunologischen Tests wenig oder gar keine Antikörper-Aktivität (Abou Daoud 1965; Williams et al. 1971; Yarzabal et al. 1974; Varela-Díaz et al. 1975 a, b). Das Fehlen einer Reaktivität in Seren von Patienten, die solche Zysten haben, unterstützt die Hypothese, daß der Nachweis einer serologischen Aktivität von Alterationen der Parasitenwand, die erst eine Antigenfreisetzung ermöglichen, abhängig ist.-

Es treten aber z.T. auch serologische Reaktionen bei Patienten mit derartigen Zysten auf, für deren Erklärung Coltorti und Varela-Díaz (1976) ihre Untersuchungen an E.g.-Zysten nach Mikropunktion *in vitro* und *in vivo* heranziehen. Danach vermuten sie, daß winzigste Fissuren, die makroskopisch nicht nachweisbar sind, auch natürlicherweise in solchen anscheinend völlig intakten Zysten vorkommen können und dann die immunologische Antwort des Wirtes verursachen. Das Tegument der Germinativschicht scheint die Fähigkeit zu besitzen, Mikroläsionen reparieren bzw. die Membranintegrität wiederherstellen zu können, denn die Zysten überlebten diese Alterationen. Der Mechanismus ist jedoch noch ungeklärt.-

Bei den drei Echinokokkose-Fällen, die in meinem ELISA vereinzelt falsch negativ reagierten, liegen mir keine Angaben über die Beschaffenheit der Zystenwand vor.-

Insgesamt läßt sich sagen, daß (ausgenommen das Antigen BE) alle Antigene eine hohe Sensitivität im ELISA ermöglichen. Offensichtlich beeinflussen die von mir geprüften E.g.-Antigene verschiedener E.g.-Stämme und/oder geographischer Regionen nicht wesentlich die Sensitivität des ELISA zum Nachweis der zyst.E. beim Menschen.-

Die von mir erreichte hohe Sensitivität der neun verwendbaren E.g.-Antigene, die im Mittel bei 96% liegt, deckt sich mit den Ergebnissen von Sorice et al. (1977), Farag et al. (1975), Felgner (1978 c) sowie Guisantes et al. (1981), die bis zu 97% erzielten.-

Zahner et al. (1981) erreichten mit allerdings nur 7 gesicherten Echinokokkose-Fällen eine Sensitivität von 100%.-

Die niedrige Sensitivität des ELISA bei Iaconà et al. (1980) mit 64% dürfte eventuell an der Auswahl der Seren gelegen haben, die nur zu 70% in der DD und zu 52% in der IEP positiv reagierten.-

Zwischen diesen Extremen liegen die Resultate von Untersuchern, die eine Empfindlichkeit von 78,9% (Janitschke et al. 1981 b), 78,7% (Ambroise-Thomas u. Desgeorges 1980) sowie 82,5% (Dottorini et al. 1981) erreichten.-

Spezifität

Andere Infektionen als Ursache für falsch positive Reaktionen

Kreuzreaktionen und antigenetische Ähnlichkeiten zwischen *Echinococcus* und *Taenia* wurden schon von Capron et al. (1968), Ambroise-Thomas und Kien Truong (1970) sowie Capron et al. (1970) beschrieben.-

Yong und Heath (1979) konnten im Serum von Schafen, die mit E.g., *Taenia hydatigena* sowie *Taenia ovis* infiziert worden waren, 2 (*T.ovis*), 3 (*T.hydatigena*) und 16 Wochen (E.g.) post infectionem Antikörper gegen "arc 5" nachweisen.-

Eine starke Kreuzreaktion in der KBR (1:384) beobachteten Hess et al. (1974) bei einem Serum eines E.g.-Patienten unter Verwendung von *Cysticercus cellulosae*-Antigen (Finne von *Taenia solium*). Dasselbe Serum reagierte auch in der Immunfluoreszenz mit *Cysticercus bovis*-Antigen (Finne von *Taenia saginata*) falsch positiv (1:160).-

Mannweiler (1982) spricht von einer sogenannten "Zestodenidentität", da die üblichen Echinokokken-Antigene eine enge Beziehung zu anderen Bandwurm-Antigenen (Fairley 1933) aufweisen. So werden auch artspezifische Aussagen erschwert, denn die Seren von Zystizerkose- und Echinokokkose-Patienten reagierten mit Antigenen mehrerer anderer Bandwurmart (Dao et al. 1973, Rydzewski et al. 1975, Schantz et al. 1980).-

Unter den Nematoden fallen besonders Kreuzreaktionen mit Filarien auf.-

Nach Ambroise-Thomas et al. (1978) treten Kreuzreaktionen von Loasis-Seren mit E.g.-ZF-Antigen auf.-

Speiser (1980) beschrieb solche Reaktionen mittels ELISA bei *Dipetalonema*-Seren mit E.g.-ZF-Antigen vom Rind, umgekehrt reagierten bei ihm E.g.- und E.m.-Seren mit einem Totalextrakt *Dipetalonema*.-

Nach Butler et al. (1978) spielt die Avidität der Antikörper im ELISA eine große Rolle. Besonders deshalb vermutete Speiser (1980), daß seine Antigen-Extrakte Proteine mit ähnlichen oder identischen Epitopen enthalten.-

Gemeinsame Antigene unter Zestoden und Filarien wurden bereits von Biguet et al. (1962), Capron et al. (1968), Niel et al. (1972) sowie Gentilini et al. (1972) festgestellt.-

Speiser (1980) beobachtete Kreuzreaktionen von Ankylostomiasis-, Trichuriasis- sowie Trichinelliasis-Seren mit E.g.-ZF-Antigen vom Rind im ELISA.-

Auch bei Janitschke et al. (1981 b) zeigten sich derartige Reaktionen von Filariasis-Seren mit dem E.g.-Antigen von Pasteur im ELISA.-

Gore et al. (1970) erreichten mittels Soluble Antigen Fluorescent Antibody Test (SAFA-Test) unter Verwendung gereinigter E.g.-ZF vom Schaf (Gelfiltration mit Sephadex G-200) in bezug auf Seren von Patienten mit anderen Parasitosen eine Spezifität von 55%. Es handelte sich um Seren von Patienten mit folgenden Parasitosen: Taeniasis, Filariasis, Trichuriasis, Ankylostomiasis, Askariasis, Schistosomiasis, Trichinelliasis sowie Malaria, Amöbiasis, Trypanosomiasis und Toxoplasmose. Bei Verwendung eines durch Gelfiltration (Sephadex G-200) gereinigten Scolicesextraktes stieg die Spezifität auf 95% an, und es reagierten nur noch Taeniasis-, Filariasis- und Schistosomiasis- sowie Malaria-Seren falsch positiv.-

In meinen Untersuchungen zeigte der ELISA mit dem Antigen RS (Rind/Schweiz) die höchste Spezifität, die für die Gruppen II, III und IV bei 84, 100 bzw. 98%, d.h. im Mittel bei 94% lag.-

In der Gruppe II (andere Helminthen-Infektionen) traten falsch positive Ergebnisse mit einem von insgesamt drei Zystizerkose-Seren, mit zwei von fünf Filariasis-Seren sowie mit dem Strongyloidiasis/Ankylostomiasis-Serum auf.-

Mit dem Antigen PA (Institut Pasteur: Schaf/Portugal, Algerien, Tunesien) erreichte der ELISA die zweithöchste Spezifität, die im Mittel bei 89% lag. Hier tauchten zusätzlich zu den oben genannten falsch positive Ergebnisse mit je einem Toxocariasis/Askariasis-, Amöbiasis- sowie Toxoplasmose-Serum auf.-

Eine durchschnittlich 83%ige Spezifität erreichte der ELISA mit 3 Antigenen (PE, SA, VI).-

Diese Antigene reagierten im weiteren mit den Schistosomiasis-Fällen und das Antigen SA zusätzlich noch mit einem Askariasis/Trichuriasis- und einem Malaria-Serum sowie das Antigen VI mit den beiden Ankylostomiasis-Seren.-

Mit einer Spezifität von 82% bei Anwendung des Antigen MK (Mensch/Kenia) zeigte der ELISA bei den Helminthen-Fällen fast die gleiche Spezifität wie das Antigen RS (Rind/Schweiz), da nur das Askariasis/Trichuriasis-Serum zusätzlich reagierte. Die mittlere Spezifität des Tests war jedoch durch die

relativ geringe Spezifität bei den Protozoen-Infektionen (68%) viel niedriger. Hierzu kam es außer Reaktionen mit Seren von Amöbiasis- und Malaria-Patienten noch zu relativ schwachen Reaktionen mit Leishmaniasis-Seren sowie stärkeren Reaktionen mit zwei von drei Chagas-Seren.-

Die Spezifität des ELISA betrug mit dem Antigen ST (Schaf/Türkei) durchschnittlich 77%. Es reagierte als einzigstes Antigen mit dem Hymenolepiasis-Serum. Dies ist insofern interessant, als daß Hymenolepis als Zestode antigenetisch eine relativ enge Beziehung zu den E.g.-Antigenen haben dürfte, denn es eignen sich Antigenpräparationen von Hymenolepis nana und Hymenolepis fraterna nach Brisou (1946) sowie Culbertson und Rose (1941) für den Nachweis der Echinokokkose mittels IDT. Das Ausbleiben von Kreuzreaktionen des Hymenolepiasis-Serums mit den übrigen von mir getesteten Antigenen erscheint noch um so deutlicher, da der mit Antigen ST erhaltene Extinktionswert von 1.359 bei einem Grenzwert von 0.136 sehr hoch liegt.-

Mit diesem Antigen reagierte auch das Askariasis/Ankylostomiasis-Serum erstmals. Ferner zeigte Antigen ST mit den Seren aller bisher genannten Helminthen- sowie Protozoen-Infektionen (ausgenommen Leishmaniasis und Amöbiasis) z.T. falsch positive Reaktionen.-

Die durchschnittliche Spezifität des ELISA fiel bei den Antigenen BM (bio Mérieux: Schaf/Herkunftsland unbekannt) sowie KA (Kamel/Ägypten) mit 72 bzw. 68% am schwächsten aus. Sie reagierten teilweise mit allen bisher aufgeführten Patientenseren falsch positiv (ausgenommen Antigen BM, das keine Reaktion mit Leishmaniasis- und Chagas-Seren zeigte). Hinzu kam bei beiden Antigenen eine falsch positive Reaktion mit dem Trichuriasis-Serum.-

Die anhand der Serengruppe IV (48 Seren klinisch gesunder Personen ohne Verdacht auf eine Parasitose, die auch in der IHA und im IFAT gegen Echinokokken-Antigen negativ reagierten) geprüfte Spezifität des ELISA lag mit allen getesteten Antigenen zwischen 94 und 98%.-

Zwei Seren aus dieser Gruppe (IV, Nr.6 u. Nr.40) reagierten auffällig häufig (bei 6 bzw. 5 von 9 verwendbaren Antigenen) falsch positiv. Diese Resultate bedürfen der Abklärung, ob bei diesen Patienten nicht doch eine bisher unerkannt gebliebene Infektion mit Echinokokken, eine andere Infektion, eine entsprechende Antigenstimulation bzw. eine nicht infektiöse Erkrankung oder Ursache vorliegt, die derartige unspezifische Reaktionen auslösen kann.-

Weitere Ursachen für falsch positive Reaktionen

Ursache für falsch positive Ergebnisse können Reaktionen zwischen antigene-tisch wirksamen Wirtskomponenten in Echinokokken-Antigenen und den ent-sprechenden Antikörpern im Patientenserum sein (Gräfe 1964, Kagan 1968).- Kagan et al. (1960 b) beobachteten mittels IHA und BFT unspezifische sero-logische Reaktionen von E.g.-ZF vom Schwein mit Seren von Patienten, die an Leberzirrhose, Nephrose, Lupus erythematodes, multiplum Myelom, Hypogamma-globulinaemie und Agammaglobulinaemie erkrankt waren. Dabei zeigten die Se-ren von Patienten mit Zirrhose und Nephrose mit diesem Vollantigen den höchsten Prozentsatz an falsch positiven Reaktionen (49 und 25%). Für die-ses Ergebnis sind nach Kagan et al. (1960 b) möglicherweise die von ihnen im Serum einiger Patienten festgestellten Autoantikörper verantwortlich, die mit dem in der ZF enthaltenen Wirtsprotein kreuzreagierten.-

Bensted und Atkinson (1958) beschrieben zwei Fälle, in denen die betreffen-den Personen keine Echinokokkose hatten und trotzdem zweifelhafte oder falsch positive Ergebnisse im IDT bzw. in der Komplementfixation zeigten. Wie weitere Untersuchungen bestätigten, war die Ursache offensichtlich eine vorausgegangene Schutz-Impfung mit einer über das Schaf hergestellten Toll-wut-Vakzine. Die im Patientenserum durch die Impfung mitinduzierten Anti-körper gegen Schaf-Protein reagierten mit dem Schaf-Protein in der für den Test verwendeten Zystenflüssigkeit.-

Die Zystenflüssigkeit zeigt eine graduell instabile Immunaktivität (Kagan u. Agosin 1968). Neben den in ihr enthaltenen Antigenkomponenten des Parasiten (Kagan u. Norman 1961; Kagan u. Norman 1963 a, b) kann es sich bei denen des Wirtes um Blutgruppensubstanzen und/oder Serumproteine handeln (Cameron u. Staveley 1957, Levine et al. 1958, Coltorti u. Varela-Díaz 1972).-

Die Präparation und Bestimmung der Teilantigene brachte auch bei Norman und Kagan (1966) sowie Norman et al. (1966) neben relativ wenigen Parasiten-Antigenen zahlreiche Wirtsantigene zum Vorschein. Dabei scheint die Permea-bilität der Zystenwand von entscheidender Bedeutung zu sein (Schwabe 1959, Varela-Díaz u. Coltorti 1973, Coltorti u. Varela-Díaz 1974). Zudem scheint sie auch ursächlich für die unterschiedlichen Albumin- und Immunglobulin-Konzentrationen in Zystenflüssigkeiten verantwortlich zu sein (Coltorti u. Varela-Díaz 1974).-

Das menschliche Blutgruppen-P-System schließt zwei große Phänotypen, P_1 und P_2 , ein (Landsteiner u. Levine 1927). P_1 -Individuen tragen das Antigen P_1 auf den Erythrozyten. 25% der europäischen Bevölkerung sind P_2 -Individuen (Race u. Sanger 1970), denen dieses Antigen fehlt und in deren Seren Anti- P_1 -Antikörper vorkommen.-

Die P_1 -Substanz ist in der Natur weit verbreitet und wurde auch bei einigen anderen Helminthen (z.B. *Ascaris suum*) beschrieben (Prokop u. Schlesinger 1965). Da auch in der E.g.-Zystenflüssigkeit eine Blutgruppen-P-Substanz (P_1 -blutgruppen-antigen-ähnliche Mukopolysaccharide) vorhanden ist (Lit. bei Kagan u. Agosin 1968), kann es zur Reaktion zwischen dieser und den Anti- P_1 -Antikörpern kommen.-

Merritt und Hardy (1955) berichteten über eine hohe Anti- P_1 -Aktivität im Serum eines an Echinokokkose erkrankten 12-jährigen Jungen.-

Das Vorkommen einer P_1 -Antigen-Aktivität in Echinokokken-Zystenflüssigkeit wurde dann zuerst 1957 von Cameron und Staveley nachgewiesen. Andere Untersucher konnten dies bestätigen (Prokop u. Oesterle 1958). Russi et al. (1974) isolierten und charakterisierten P_1 aus der E.g.-Zystenwand vom Schaf und Menschen als Glykoprotein (Galaktose, Galaktosamin, Glukosamin). Es präzipitierte mit 11 von 21 Echinokokken-Patientenseren. Interessanterweise zeigte sich in der IEP eine größere Reaktivität bei Patienten mit Zysten in der Lunge als bei Patienten mit Zysten in der Leber.-

Auch im Serum von Karzinom-Patienten kann es nach Norris (1965) zum Auftreten von Anti- P_1 -Antikörpern kommen. So erklärte er sich die unspezifischen Reaktionen im IDT bei diesen Patienten. Die starken positiven Reaktionen in der Komplementfixation mit E.g.-Antigen und Seren von Karzinomkranken (Gräfe 1964) dürften ebenfalls auf Reaktionen von Antikörpern mit bestimmten Blutgruppensubstanzen der ZF zurückzuführen sein (Kagan 1968). Auch Yong et al. (1979) diskutierten mögliche antigenetische Ähnlichkeiten von Neoplasien und E.g.-Zystenflüssigkeit anhand eigener Beobachtungen bei einem Patienten mit Lungenkarzinom.-

Die P_1 -Aktivität ist auch für das starke Auftreten von Anti- P_1 bei P_2 -Individuen, die an Echinokokkose erkrankt sind, verantwortlich (Merritt u. Hardy 1955, Cameron u. Staveley 1957).-

Nach Bevan et al. (1970) kommt die P_1 -Substanz auch bei *Fasciola hepatica* vor.-

1980 haben Ben-Ismaïl et al. die unspezifischen serologischen Reaktionen mit E.g.-Antigenen (ZF vom Schaf) untersucht. Sie empfahlen, E.g.-Antigene zu verwenden, deren P_1 -Aktivität z.B. durch Immunadsorption mit Anti- P_1 -Seren oder durch Zerstörung der P_1 -Antigen-Determinante mittels einer alpha-D-Galaktosidase beseitigt worden ist.-

In der vorliegenden Arbeit wurde die mögliche P_1 -Aktivität der verwendeten E.g.-Antigene nicht untersucht, da hier zunächst geprüft werden sollte, inwieweit E.g.-Antigene aus verschiedenen Zwischenwirt-Endwirt-Zyklen (z.T. verschiedene E.g.-Stämme) überhaupt eine Anwendung für den Nachweis der zyst.E. bei vorwiegend aus dem Mittelmeerraum stammenden Patienten erlauben.-

Der ELISA zeigte mit 3 Antigenen bei 100%iger Sensitivität folgende mittlere Spezifität:

Antigen PA (Pasteur: Schaf/Portugal, Algerien, Tunesien) = 89%,
Antigen SA (Schaf/Argentinien) und Antigen PE (Pferd/England) jeweils 83%.
Die Empfindlichkeit des Tests betrug bei Verwendung der Antigene ST (Schaf/Türkei) und BM (bio Mérieux: Schaf/Herkunftsland unbekannt) zwar ebenfalls 100%, doch sank seine Spezifität dabei im Mittel auf 77% (ST) bzw. 72% (BM) ab.-

Bei den Antigenen VI (Virion: Rind/Schweiz) und KA (Kamel/Ägypten) beobachtete ich eine Testempfindlichkeit von je 96% bei einer mittleren Spezifität von 83 (VI) bzw. nur 68% (KA).-

Mit dem Antigen RS (Rind/Schweiz) konnte ich zwar die höchste Test-Spezifität (durchschnittlich 94%) erzielen, jedoch lag die Empfindlichkeit des ELISA mit diesem Antigen bei nur 88%. -

Unter Benutzung von Antigen MK (Mensch/Kenia) ergab sich bei einer 84%igen Sensitivität eine durchschnittlich 82%ige Test-Spezifität.-

Insgesamt zeigte der ELISA mit den 9 verwendbaren E.g.-Antigenen bei einer hohen Sensitivität trotz ausschließlicher Verwendung von Vollantigenen eine recht gute Spezifität, die jedoch bei drei Antigenen vor allem durch zahlreiche falsch positive Reaktionen in der Gruppe der Seren von Patienten mit anderen Helminthen-Infektionen unter 80% absank.-

Während die Spezifität des ELISA im allgemeinen von der Gruppe der Helminthen-Infektionen (II) über die Gruppe der Protozoen-Infektionen (III) bis zur Gruppe klinisch gesunder Personen (IV) zunahm, trat bei Antigen MK in Gruppe III ein deutlicher Spezifitätsverlust auf, der zunächst nicht erklärbar ist. Weitere Untersuchungen, die eventuell hier den Einfluß von antigenetisch wirksamen Wirtskomponenten in der ZF untersuchen, können vielleicht Aufschluß geben. Neben anderen serologischen Tests sollten auch anamnestiche Nachforschungen z.B. hinsichtlich des Herkunfts- bzw. Urlaubslandes sowie bestimmter Impfungen bei diesen Patienten durchgeführt werden. Außerdem sind etwa bisher nicht erkannte Infektionen, Antigenstimulationen mit z.B. antigenetisch ähnlichen Parasiten, bestimmte Neoplasien, Leberzirrhosen sowie Nephrosen als Ursache für falsch positive Reaktionen in Betracht zu ziehen.-

Unter meinen Testbedingungen haben sich besonders gut die Antigene PA, SA und PE für den Nachweis der zyst.E. bei Patienten vorwiegend aus dem mediterranen Raum geeignet.-

Offensichtlich beeinflussen die intraspezifischen Varianten (= Stämme) der von mir untersuchten E.g.-Antigene nicht wesentlich die Anwendungsmöglichkeit des ELISA zum Nachweis der zyst.E. beim Menschen.-

Zur weiteren Absicherung der Ergebnisse sollten noch andere Antigene geprüft werden.-

Ferner hat sich gezeigt, daß das vom Bundesgesundheitsamt hergestellte Echinokokkose-Referenzserum in verschiedenen Endemiegebieten mit unterschiedlichen Antigenen aus der Zystenflüssigkeit von Echinococcus granulosus als Kontrollserum eingesetzt werden kann. Dieses Referenzserum des BGA wird laufend an verschiedene Länder abgegeben. Es bleibt abzuwarten, inwieweit sich die rückgemeldeten Ergebnisse mit meinen hier dargestellten Befunden decken.-

7. Zusammenfassung - Summary

Bei *Echinococcus granulosus* treten zahlreiche intraspezifische Varianten auf, die gegenwärtig als Stämme angesehen werden.-

Es wurde untersucht, welchen Einfluß diese auf die Sensitivität und Spezifität des Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) besitzen.-

Zehn aus Zystenflüssigkeit verschiedener Zwischenwirte gewonnene *Echinococcus granulosus*-Antigene wurden unter Verwendung von Humanseren im ELISA geprüft.-

Dabei wurden je 25 Seren von Patienten mit zystischer Echinokokkose (I), anderen Helminthen-Infektionen (II), Protozoen-Infektionen (III) sowie 48 Seren klinisch gesunder Personen ohne Verdacht auf Parasitosen (IV) verwendet.-

Eine ausreichende bis sehr hohe Sensitivität (84-100%) konnte mit allen nicht kommerziellen Antigenen (Kamel/Ägypten, Schaf/Türkei, Schaf/Argentinien, Rind/Schweiz, Pferd/England, Mensch/Kenia) sowie den kommerziellen Antigenen (bio Mérieux: Schaf/Herkunftsland unbekannt; Institut Pasteur: Schaf/Portugal, Algerien, Tunesien; Institut Virion: Rind/Schweiz) erzielt werden.-

Als nicht verwendbar erwies sich nur ein für die KBR hergestelltes Antigen der Behringwerke (Schaf, Rind/Jugoslawien, Nordafrika).-

Größeren Einfluß zeigte die Verwendung der verschiedenen Antigene auf die Spezifität des ELISA, die im Mittel zwischen 68 und 94% lag, jedoch bei sechs von neun verwendbaren Antigenen durchschnittlich über 80% erreichte.-

Die Ergebnisse deuten ferner darauf hin, daß das Echinokokkose-Referenserum des Bundesgesundheitsamtes trotz regional unterschiedlicher Antigene in verschiedenen Endemiegebieten eingesetzt werden kann.-

Summary

Echinococcus granulosus shows several intraspecific variants presently considered to be strains.-

In this thesis, it was examined whether these variants may have any influence upon sensitivity and specificity of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).-

Ten *Echinococcus granulosus* antigens prepared from cyst fluid of various intermediate hosts were tested by ELISA utilizing human sera. These were collected from patients infected with *Echinococcus granulosus* (I), other helminthes (II), and protozoa (III), and from healthy individuals not being suspected of having parasitic infections (IV).-

Groups I-III comprised 25 patients each and group IV 48 healthy subjects.-

A sufficient or very high sensitivity (84-100%) was obtained with all non-commercial antigens (camel/Egypt, sheep/Turkey, sheep/Argentina, cattle/Switzerland, horse/Great Britain, man/Kenya) and also with the commercial antigens (bio Mérieux: sheep/country unknown; Institut Pasteur: sheep/Portugal, Algeria, Tunisia; Institute Virion: cattle/Switzerland).-

The only ineffective antigen was a product of Behringwerke (sheep, cattle/Yugoslavia, North Africa), which is prepared for use in the complement fixation test.-

A greater influence was noted upon the specificity of ELISA which was between 68 and 94% on average and more than 80% with six of nine usable antigens.-

Furthermore, the results of this study indicate that despite the regional variants of *Echinococcus granulosus*, the *Echinococcosis* Reference Serum of the Federal Health Office can be used in different endemic areas.-

8. Tabellen und Abbildungen

Antigenmaterial	Zwischenwirt/Land (Abk.)	Herstellung/Vorbehandlung
E.g.-ZF	<u>K</u> amel/ <u>A</u> egypten (<u>KA</u>)	nicht kommerz./Lyophilisation Zentrifugation
E.g.-ZF + Zystensand	<u>S</u> chaf/ <u>T</u> ürkei (<u>ST</u>)	nicht kommerz./Lyophilisation Homogenisation Zentrifugation
E.g.-ZF	<u>S</u> chaf/ <u>A</u> rgentinien (<u>SA</u>)	nicht kommerz./Dialyse Lyophilisation
E.g.-ZF	<u>R</u> ind/ <u>S</u> chweiz (<u>RS</u>)	nicht kommerz./Zentrifugation
E.g.-ZF	<u>P</u> ferd/ <u>E</u> ngland (<u>PE</u>)	nicht kommerz./Zentrifugation
E.g.-ZF	<u>M</u> ensch/ <u>K</u> enia (<u>MK</u>)	nicht kommerz./Zentrifugation
E.g.-ZF	Schaf, Rind/Jugoslawien, Nordafrika (<u>BE</u>)	kommerziell: <u>BEHRINGWERKE</u> /Lipidextraktion
E.g.-ZF	Schaf/Herkunftsland unbekannt (<u>BM</u>)	kommerziell: <u>BIO MERIEUX</u> /Lyophilisation
E.g.-ZF	Schaf/Portugal, Algerien, Tunesien (<u>PA</u>)	kommerziell: <u>INSTITUT PASTEUR</u> /Lyophilisation
E.g.-ZF	Rind/Schweiz (<u>VI</u>)	kommerziell: <u>INSTITUT VIRION</u> /Lyophilisation

Tab.1: Echinokokken-Antigene aus E.g.-Zystenflüssigkeit (E.g.-ZF)

Serum-Nr.	Herkunftsland, Geburtsjahr u. Geschlecht (w/m)	Befallenes Organ	Blutentnahme x Tage vor (-), nach (+) der Op.	IFAT-Titer	IHA - Titer	KBR - Titer	ELISA (Ext.)	Direkter Parasiten-nachweis
1	TR, 1948, w	Leber	- 1	40	512	20	+	+
2	TR, 1934, m	Leber	- 35	40	4096	-	-	-
3	RL, 1961, m	Leber	- 8	40	1024	10	+	+
4	ET, 1939, w	Leber/Wilz	+ 250	40	1024	10	+	+
5	TR, 1939, m	Leber	- 2	80	8192	10	+	+
6	D, 1905, m	Leber	mehr. J. nach Op.	80	2048	10	+	+
7	TR, 1938, m	Leber	+ 109	160	131072	-	-	Ø
8	D, 1897, w	Leber	- 7	320	8192	-	-	-
9	TR, 1959, w	Leber	- 14	1280	8192	20	+	+
10	TR, 1944, w	Leber	- 6	640	2048	-	+	+
11	TR, 1963, m	Leber/Pankr.	- 7	1280	-	-	-	-
12	GR, 1950, w	Leber	- 4	80	2048	-	+	+
13	YU, 1952, w	Beckenraum	- 10	20	Ø	5	+	+
14	SYR, 1926, w	Leber	- 14	40	2048	-	-	-
15	TR, 1950, w	Lunge	+ 109	40	Ø	40	Ø	-
16	GR, 1939, w	Leber	+ 75	80	16384	40	+	+
17	TR, 1959, m	Leber	II	160	8192	160	+	+
18	GR, 1938, m	Leber	mehr. J. nach Op.	160	16384	Ø	+	+
19	F, 1941, w	Leber	+ 87	640	2000	10	+	+
20	IR, 1953, m	?	?	320	-	-	-	-
21	RL, 1949, w	Leber	- 1	640	65536	-	-	+
22	TR, 1961, w	Leber	- 22	80	2048	-	-	-
23	TR, 1953, w	Leber	?	160	-	-	-	-
24	YU, 1961, w	Leber	+ 14	640	8192	-	-	+
25	RL, 1974, m	Leber/Lunge	+ 172	40	256	-	-	+

Tab.2: Echinokokkose-Seren (Gruppe I): nachgewiesene Fälle von zyst.E. bzw. Seren von Patienten ohne parasitologisch gesicherte Echinokokkose, jedoch mit Antikörpern gegen Echinokokken; positiv (+), negativ (-), nicht getestet (Ø), keine Angabe (?)

Serum-Nr.	Parasitose	Direkter Parasitennachweis	IFAT-Titer	IHA-Titer	ELISA-Titer
1	Zystizerkose	+	-	-	-
2	"	+	-	-	-
3	"	+	20	-	-
4	Hymenolepiasis	+	-	-	-
5	Schistosomiasis	?	40	128	-
6	"	?	40	Ø	-
7	"	+	80	64	-
8	"	+	80	512	-
9	Filariasis	+	20	-	-
10	"	?	20	-	-
11	"	?	20	-	-
12	"	+	80	-	-
13	"	+	80	-	-
14	Askariasis/Trichuriasis	+	-	-	-
15	Oxyuriasis	+	-	-	-
16	Trichuriasis	+	-	-	-
17	Ankylostomiasis	+	-	-	-
18	Strongyloidiasis/Ankylostomiasis	+	-	-	-
19	Ankylostomiasis	+	-	-	-
20	Askariasis/Ankylostomiasis	+	-	-	-
21	Oxyuriasis	+	-	-	-
22	Askariasis	?	?	?	-
23	Trichinellosis	+	20	-	-
24	Toxocariasis/Askariasis	+	-	-	320/80
25	"	+	-	-	10/ 5

Tab.3: Seren von Patienten mit anderen Helminthen-Infektionen bzw. den entsprechenden Antikörpern (Gruppe II); positiv (+), negativ (Ø), nicht getestet (-), keine Angabe (?)

Serum-Nr.	Parasitose	Direkter Parasitennachweis	IFAT-Titer	IHA-Titer	SFT-Titer
1	Malaria	+	Ø	128	-
2	"	+	20	-	-
3	"	?	20	-	-
4	"	+	40	2048	-
5	"	?	40	8	-
6	Leishmaniasis	-	640	-	-
7	"	-	20	-	-
8	"	-	160	-	-
9	"	-	40960	-	-
10	Aniöbiasis	?	80	32	-
11	"	+	80	128	-
12	"	?	80	4096	-
13	"	+	160	64	-
14	"	?	160	Ø	-
15	"	+	160	4096	-
16	"	?	320	128	-
17	"	?	320	64	-
18	Toxoplasmose	-	-	-	16
19	"	-	-	-	64
20	"	-	-	-	256
21	"	-	-	-	1000
22	"	-	-	-	16000
23	Chagas-Krankheit	-	-	Ø	-
24	"	-	40	Ø	-
25	"	-	160	?	-

Tab. 4: Seren von Patienten mit Protozoen-Infektionen bzw. den entsprechenden Antikörpern (Gruppe III); positiv (+), negativ (Ø), nicht getestet (-), keine Angabe (?)

Allgemeine Angaben

Lagerung der Ampulle bei -70°C

Auflösung des Inhaltes in 0,5 ml aqua dest.

Aufbewahrung des aufgelösten Serums über 5 Tage bei +4°C

Echinokokken-Antikörpertiter

1. Indirekter Immunfluoreszenztest nach Empfehlung der Echinokokkose-Kommission des Bundesgesundheitsamtes (Bundesgesundheitsblatt 24 (1981) 310-311)
Titer 1:160
2. Indirekter Hämagglutinationstest
 - a) Cellognost (Behring) mindestens 1: 2048
 - b) E-HA-Kit (bio Mérieux) mindestens 1:12800
3. Komplementbindungsreaktion: Titer 1:40

Diese Titer müssen erreicht werden, gegebenenfalls sind die Tests zu adaptieren und zu wiederholen.

Positive Reaktionen mit anderen Antigenen

1. Keine Reaktionen bei Testen auf:
Chagas-Krankheit, Leishmaniasis, Amöbiasis, Malaria.
2. Niedrige Titer sind möglich bei Testen auf:
Schistosomiasis, Fascioliasis, Strongyloidiasis,
Trichinelliasis, Toxocariasis, Filariasis.
3. Hohe Titer sind möglich bei Testen auf:
Zystizerkose.

Tab.5: Echinokokkose-Referenzserum des Bundesgesundheitsamtes

<u>COATING-PUFFER</u> (pH 9,6)		
Na ₂ CO ₃	(MERCK 6392)	1,59 g
NaHCO ₃	(MERCK 6329)	2,93 g
Aqua bidest.		1000,00 ml
<u>INKUBATIONSPUFFER</u> (pH 7,6)		
NaCl	(MERCK 6404)	8,00 g
KH ₂ PO ₄	(MERCK 4873)	0,20 g
Na ₂ HPO ₄ · 12 H ₂ O	(MERCK 6579)	2,89 g
KCl	(MERCK 4936)	0,20 ml
Aqua bidest.		1000,00 ml
<u>WASCHLÖSUNG</u>		
NaCl	(MERCK 6404)	45,00 g
TWEEN 20	(SERVA 37470)	2,50 ml
Aqua bidest.		5000,00 ml
<u>KONJUGAT</u>		
Peroxydase konjugiertes GOAT-ANTI-HUMAN-IgG (gamma-chain specific)		
Fä. Tago, Inc., Enzymkonzentration = 49.880,0 U/ml		
<u>SUBSTRAT-GRUNDLÖSUNGEN</u>		
a)	Orthophenylendiamin (OPD) (SIGMA P 3888)	100,00 mg
	Methanol (MERCK 6012)	10,00 ml
b)	Perhydrit (34%) (MERCK 7201)	1 Tb1.
	Aqua bidest.	5,00 ml
<u>SUBSTRAT-GEBRAUCHSLÖSUNG</u>		
	OPD-Grundlösung	1,00 ml
	Peroxyd (6%ige Grundlösung)	50,00 µl
	Aqua bidest.	98,00 ml
<u>SCHWEFELSAURE</u> (8n)		
H ₂ SO ₄	(95-98%) (MERCK 713)	97,60 ml
Aqua bidest.		120,00 ml

Tab.6: ELISA - MEDIEN

Antigene/Land (Abk.)	Prozentsatz der richtig positiven Reaktionen von 25 Seren (Gruppe I)
Kamel/Ägypten (KA)	96
Schaf/Türkei (ST)	100
Schaf/Argentinien (SA)	100
Rind/Schweiz (RS)	88
Pferd/England (PE)	100
Mensch/Kenia (MK)	84
Behringwerke: Schaf, Rind/Jugoslawien, Nordafrika (BE)	24
bio Mérieux: Schaf/Herkunftsland unbekannt (BM)	100
Institut Pasteur: Schaf/Portugal, Algerien, Tunesien (PA)	100
Institut Virion: Rind/Schweiz (VI)	96

Tab.7: Sensitivität des ELISA in Abhängigkeit vom Echinokokken-Antigen bei Seren von Patienten mit zystischer Echinokokkose

Antigene/Land (Abk.)	Prozentsatz der richtig negativen Reaktionen		
	Serengruppen		
	II(25 Seren)	III(25 Seren)	IV(48 Seren)
Kamel/Ägypten (KA)	40	68	96
Schaf/Türkei (ST)	52	84	96
Schaf/Argentinien (SA)	68	88	94
Rind/Schweiz (RS)	84	100	98
Pferd/England (PE)	60	92	96
Mensch/Kenia (MK)	80	68	98
Behringwerke: Schaf,Rind/Jugoslawien, Nordsafrika (BE)	72	80	96
bio Mérieux: Schaf/Herkunftsland unbekannt (BM)	36	84	96
Institut Pasteur: Schaf/Portugal,Algerien, Tunesien (PA)	76	92	98
Institut Virion: Rind/Schweiz (RS)	60	96	94

Tab.8: Spezifität des ELISA in Abhängigkeit vom Echinokokken-Antigen bei Seren verschiedener Patientengruppen

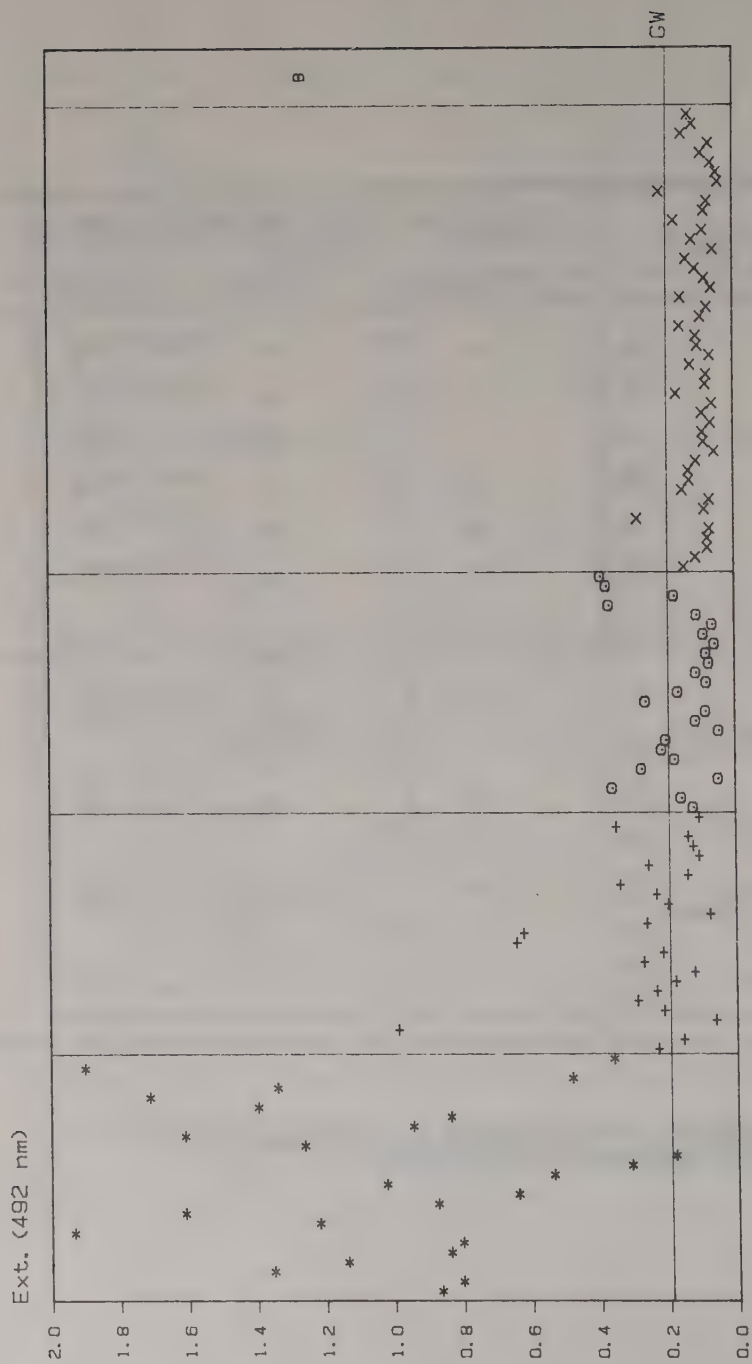


Abb. 1: Vergleich der Seren im ELISA mit E.g.-Antigen KA (Kamel/Aegypten)
 Seren: I = *, II = +, III = o, IV = x, Echinokokke-Referenzserum des BGA = B;
 Grenzwert (GW) = 0.192

Ext. (492 nm)

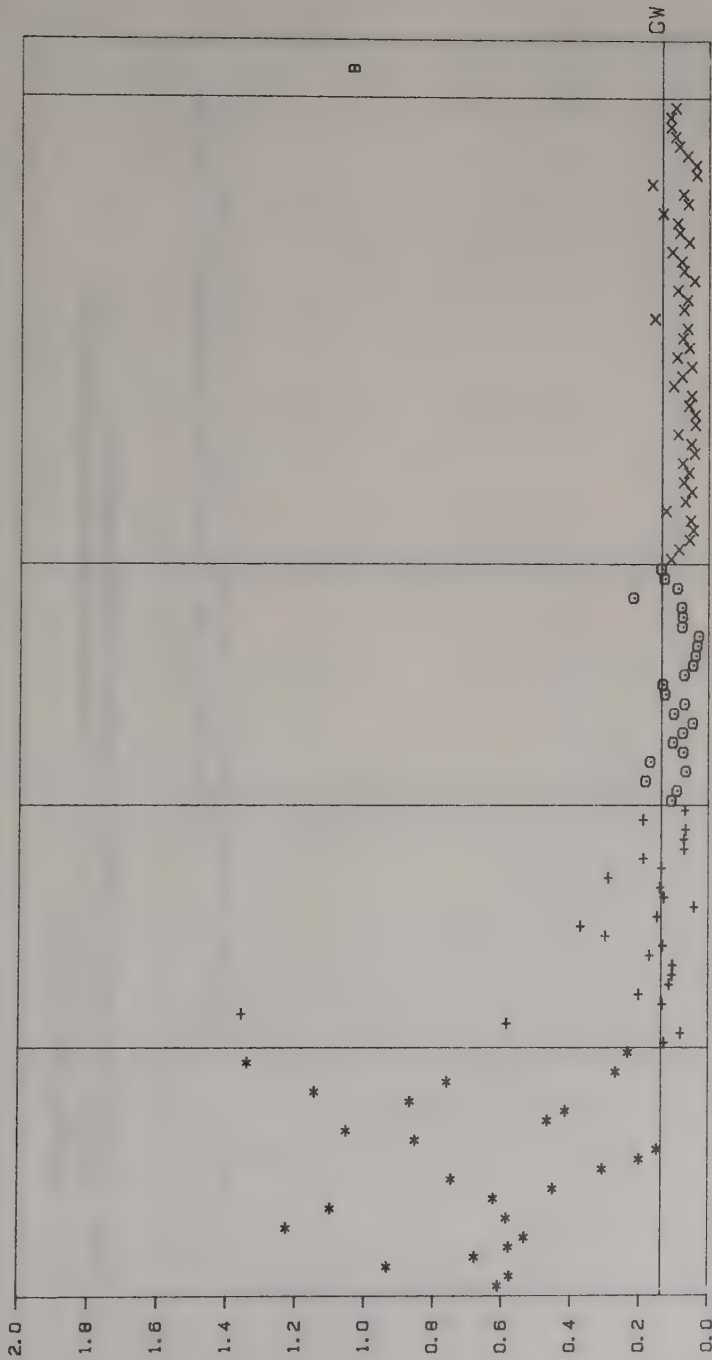


Abb.2: Vergleich der Seren im ELISA mit E.g.-Antigen ST (Schaf/Türkei)
 Seren: I = *, II = +, III = o, IV = x, Echinokkose-Referenzserum des BGA = B;
 Grenzwert (GW) = 0.136

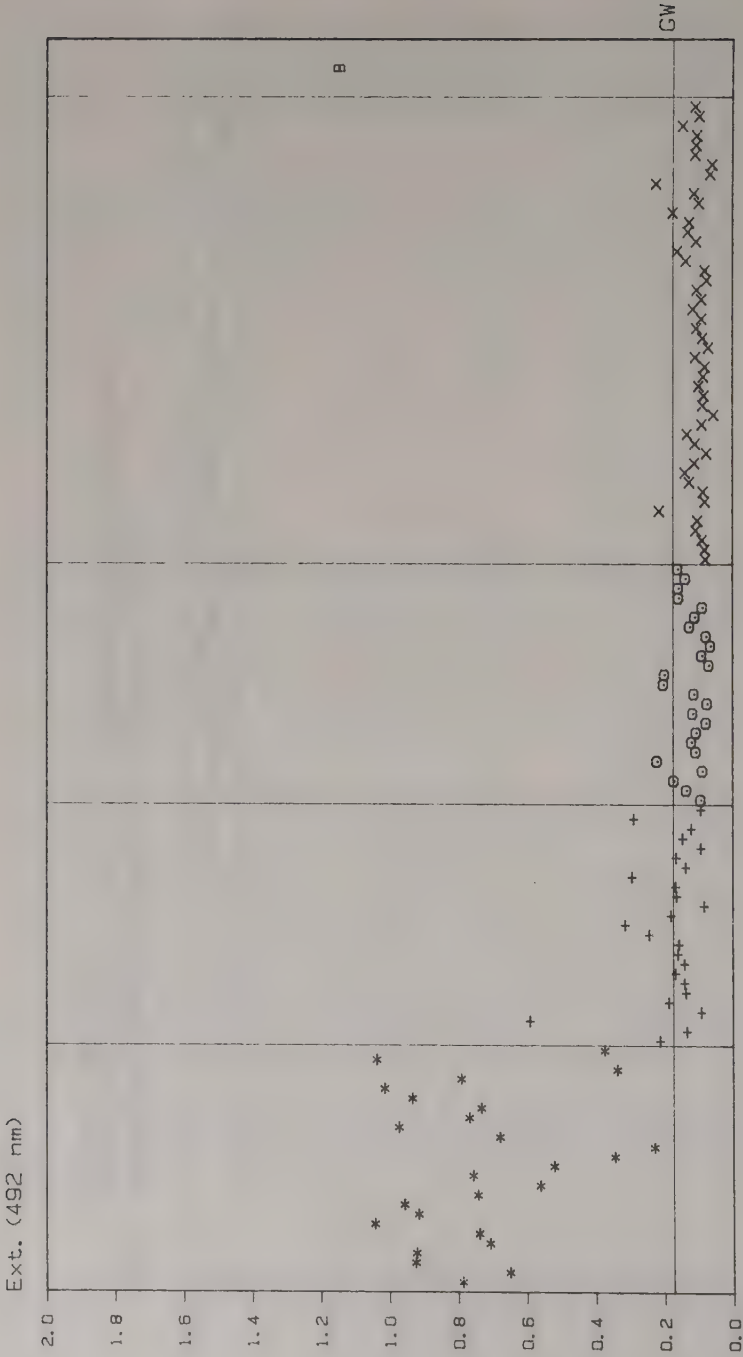


Abb. 3: Vergleich der Seren im ELISA mit E.g.-Antigen SA (Schaf/Argentinen)
 Seren: I = *, II = +, III = o, IV = x, Echinokokkose-Referenzserum des BGA = B;
 Grenzwert (GW) = 0.172

Ext. (492 nm)

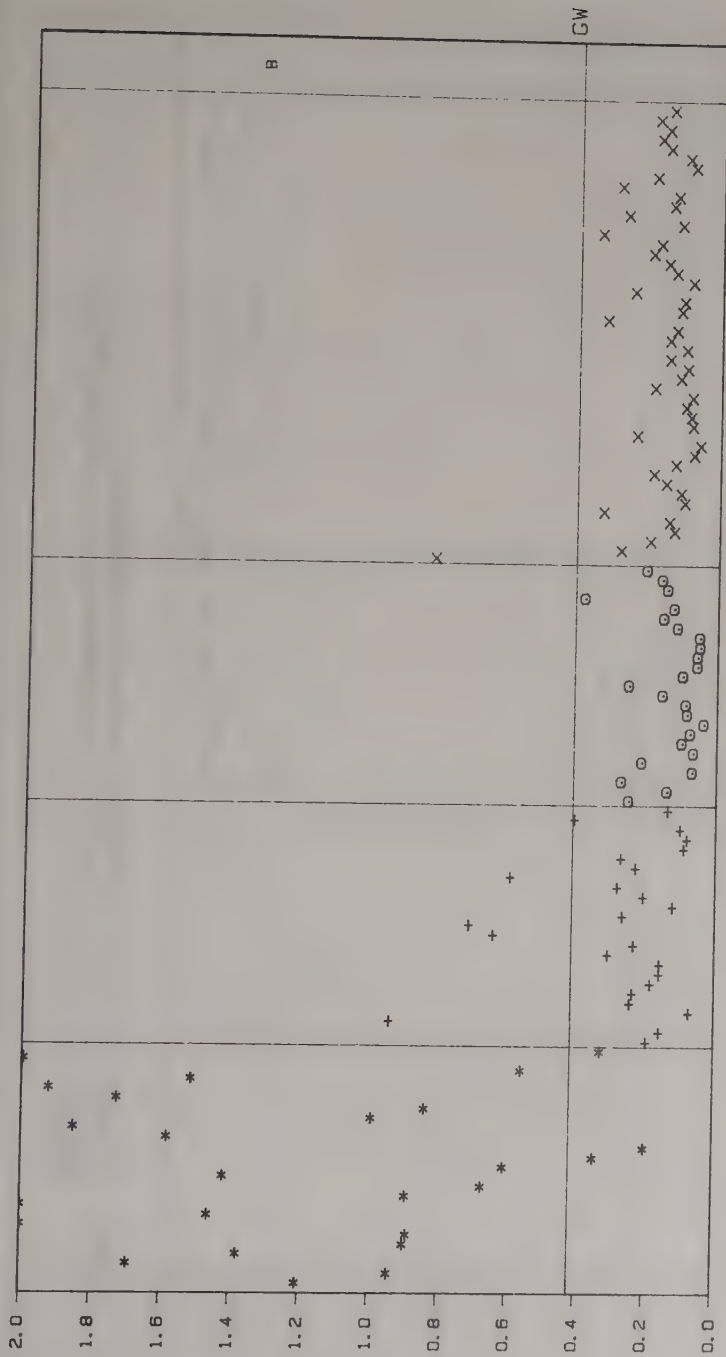


Abb. 4: Vergleich der Seren im ELISA mit E.g.-Antigen RS (Rind/Schweiz)
 Seren: I = *, II = +, III = o, IV = x, Echinokokose-Referenzserum des BGA = B
 Grenzwert (GW) = 0.417

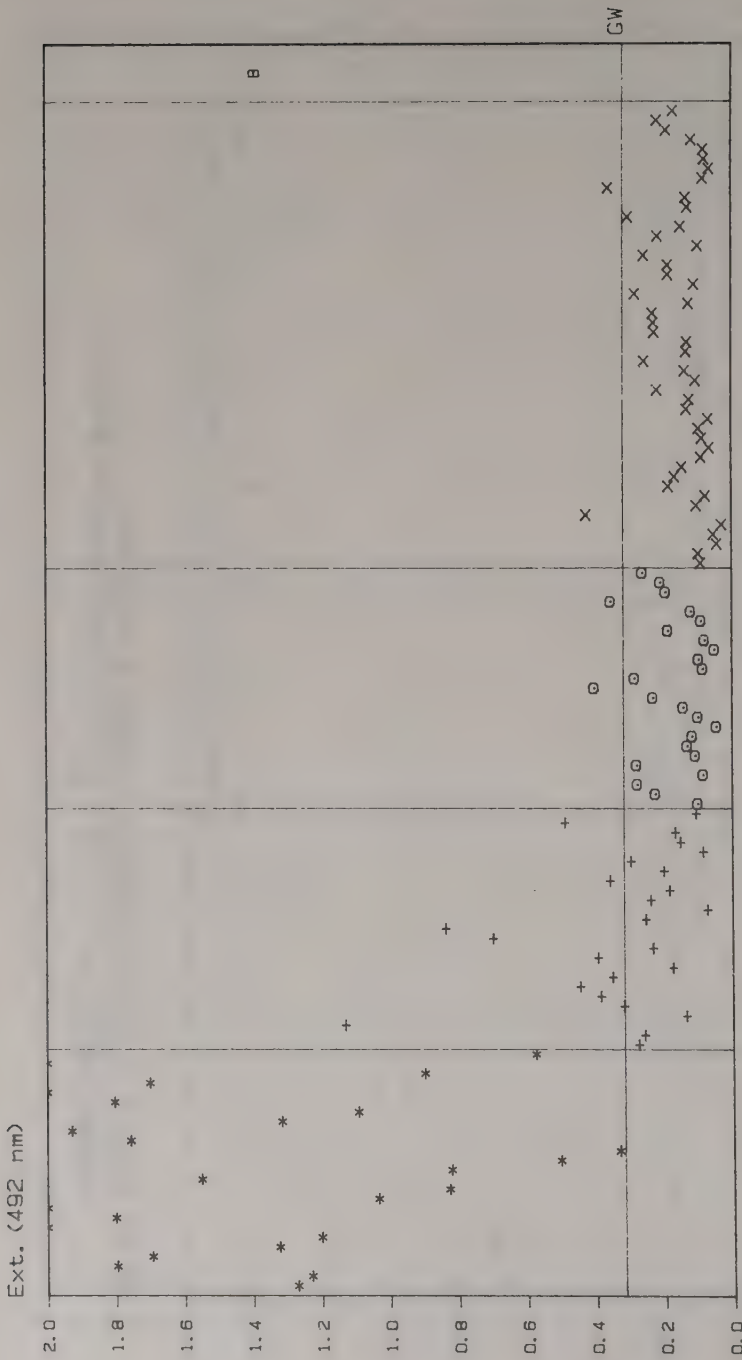


Abb. 5: Vergleich der Seren im ELISA mit E.g.-Antigen PE (Pferd/England)
 Seren: I = *, II = +, III = o, IV = x, Echinokkose-Referenzserum des BGA = B;
 Grenzwert (GW) = 0.314

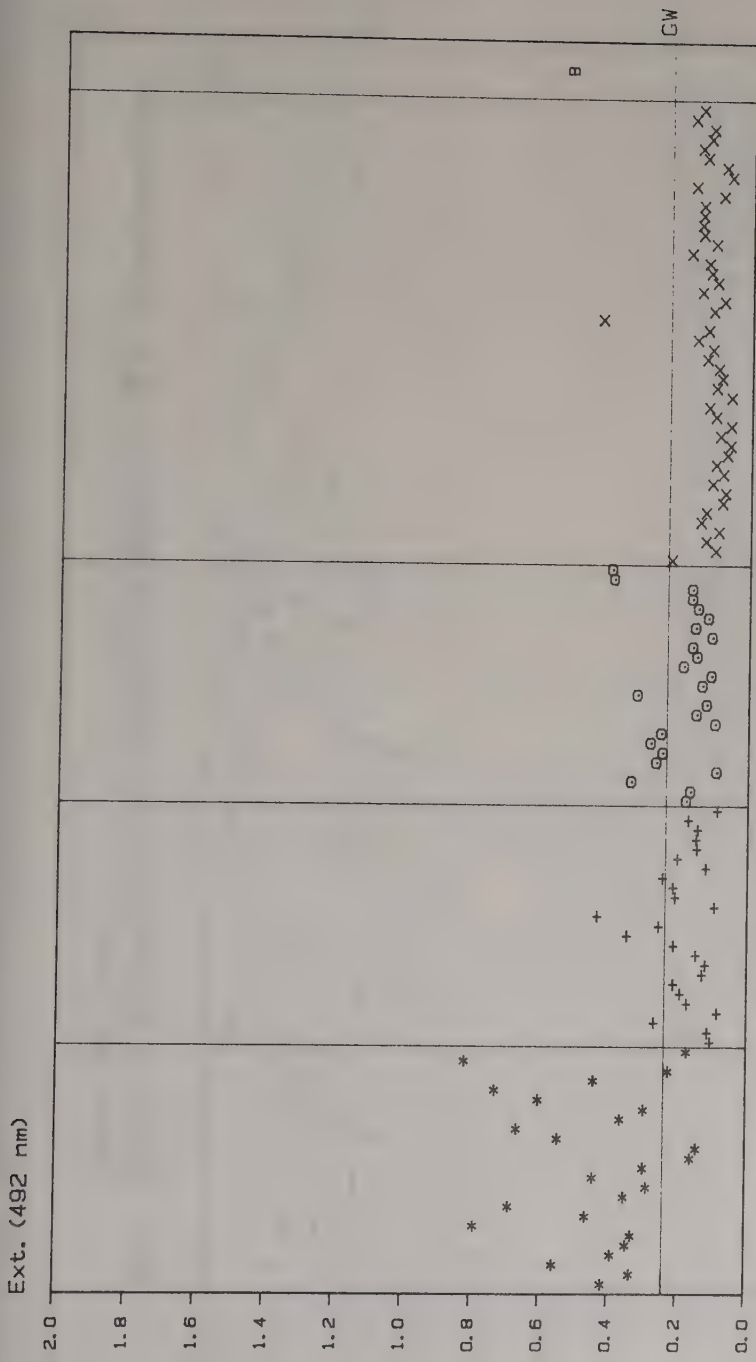


Abb.6: Vergleich der Seren im ELISA mit E.g.-Antigen MK (Mensch/Kenia)
 Seren: I = *, II = +, III = o, IV = x, Echinokokose-Referenzserum des BGA = B;
 Grenzwert (GW) = 0.238

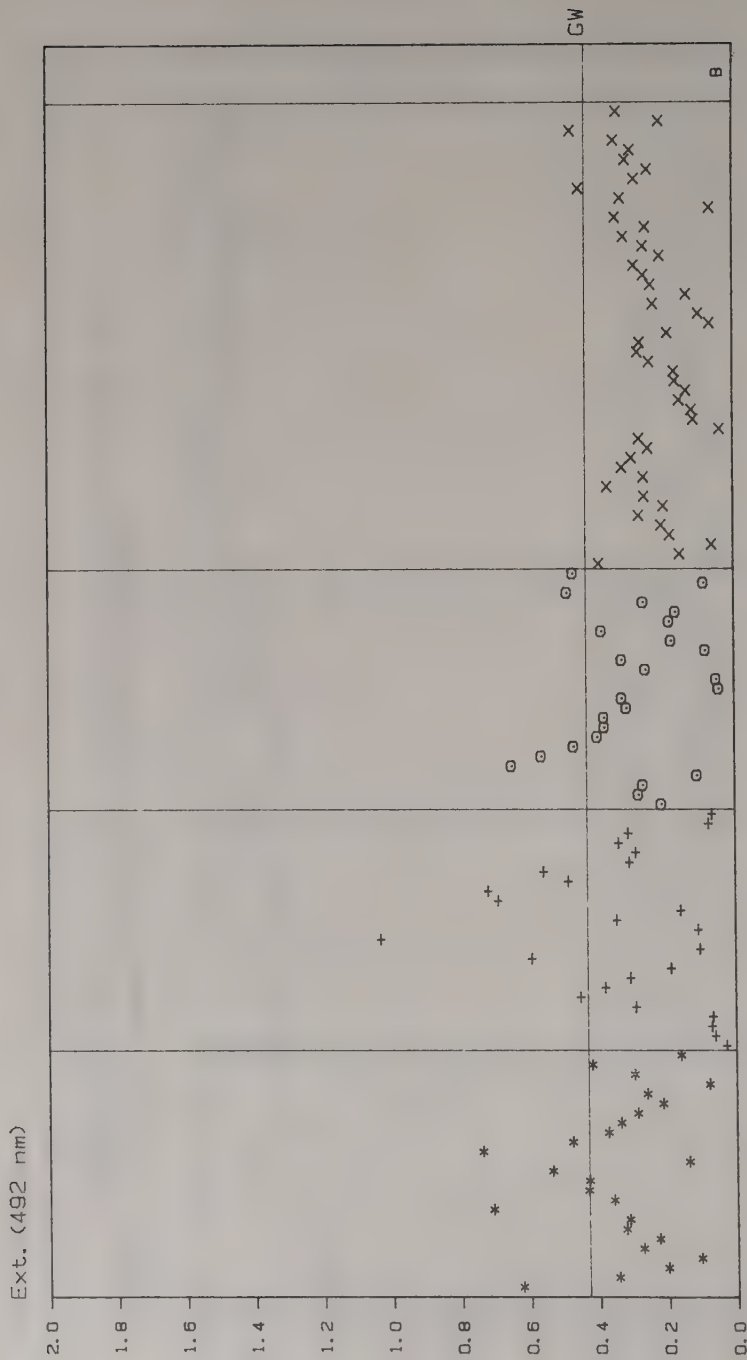


Abb.7: Vergleich der Seren im ELISA mit E.g.-Antigen BE (Behringwerke: Schaf, Rind/Jugoslawien, Nordafrika)
 Seren: I = *, II = +, III = o, IV = x, Echinokkose-Referenzserum des BGA = B;
 Grenzwert (GW) = 0.429

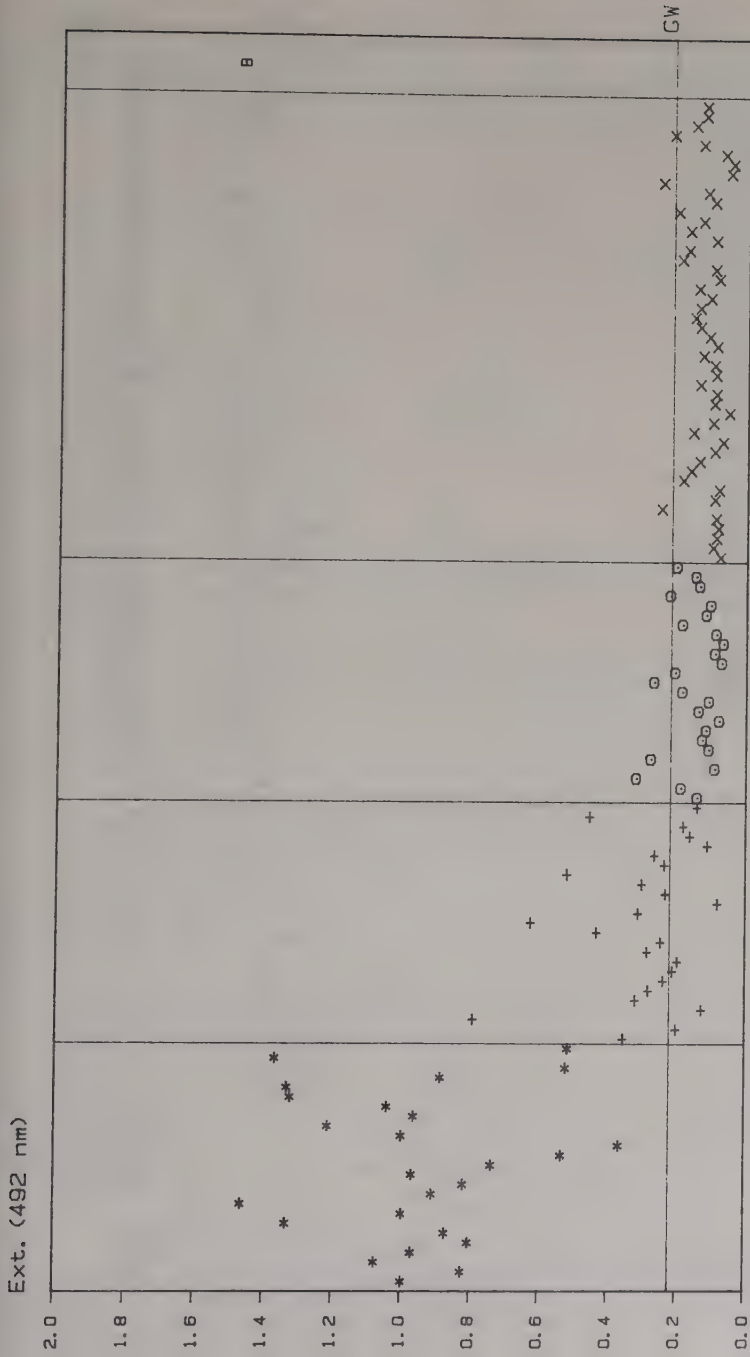


Abb.8: Vergleich der Seren im ELISA mit E.g.-Antigen BM (bio Mérieux: Schaf/Herkunftsland unbekannt)
 Seren: I = *, II = +, III = o, IV = x, Echinokokkose-Referenzserum des BGA = B;
 Grenzwert (GW) = 0.219

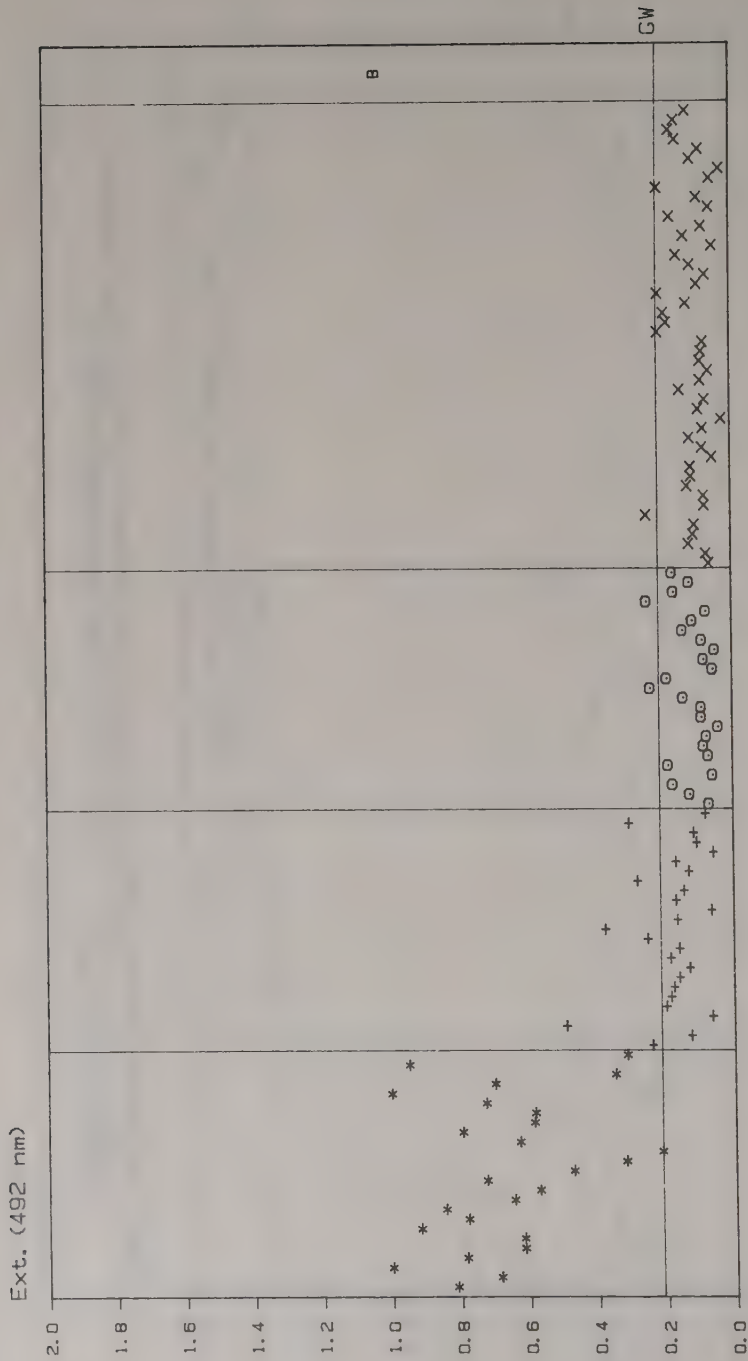


Abb. 9: Vergleich der Seren im ELISA mit E.g.-Antigen PA (Institut Pasteur: Schaf/Portugal I, Algerien, Tunesien)
 Seren: I = *, II = +, III = o, IV = x, Echinkokkose-Referenzserum des BGA = B;
 Grenzwert (GW) = 0.211

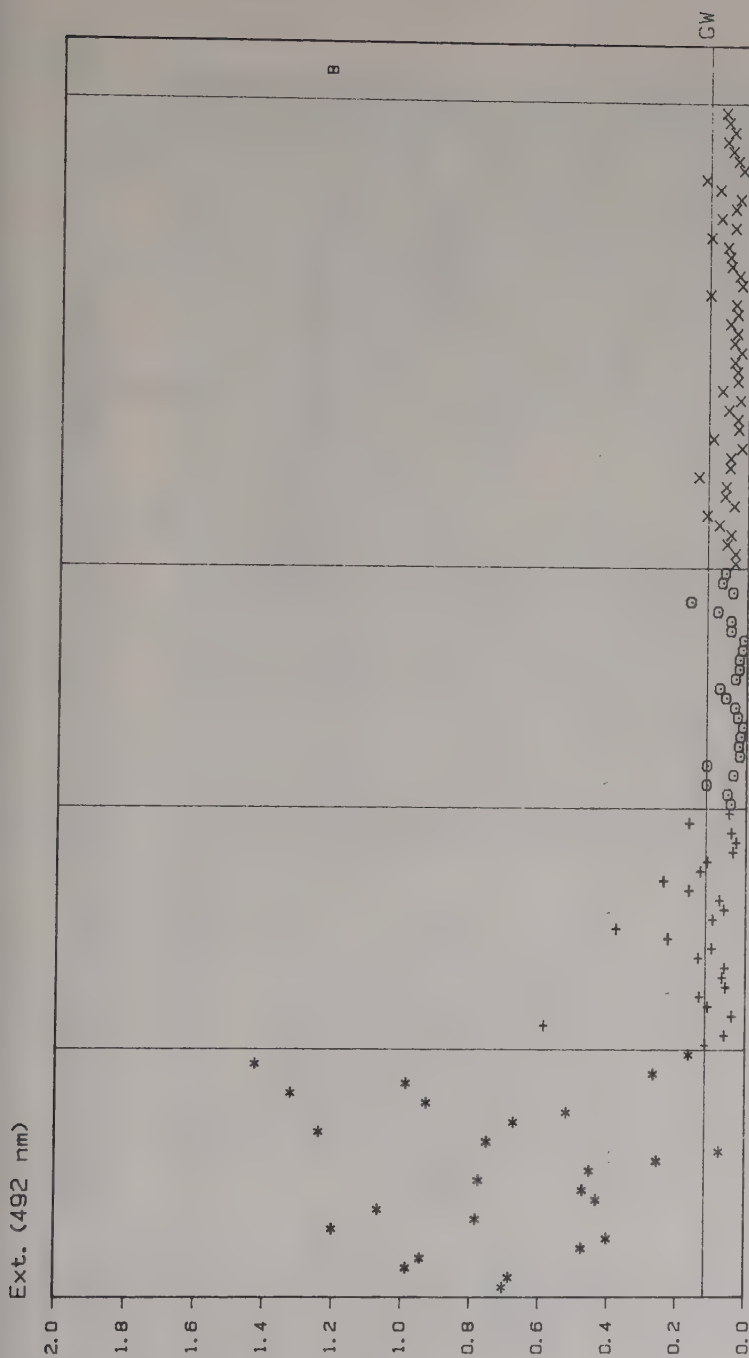


Abb.10: Vergleich der Seren im ELISA mit E.g.-Antigen VI (Institut Virion: Rind/Schweiz)
 Seren: I = *, II = +, III = o, IV = x, Echinokokkose-Referenzserum des BGA = B;
 Grenzwert (GW) = 0.116

Extinktionsdifferenzen



Abb.11: Vergleich der Sensitivität des ELISA mit den verschiedenen E.g.-Antigenen anhand der Echinokokkose-Seren (Gruppe I) mittels Darstellung der Extinktionsdifferenzen zum jeweiligen Grenzwert

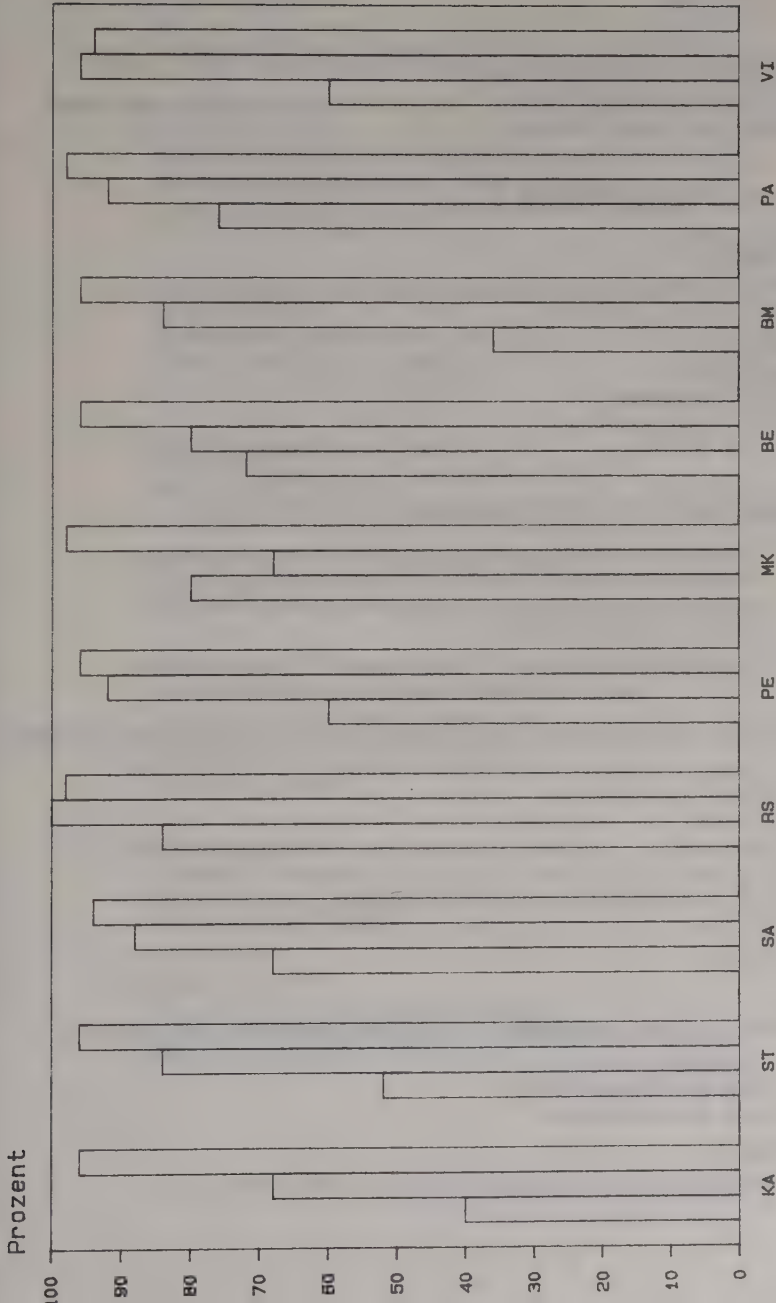


Abb.12: Vergleich der Spezifität des ELISA mit den verschiedenen E.g.-Antigenen:
Drei Säulen stellen für die Seren der Gruppen II, III und IV jeweils den Prozentsatz der richtig negativen Reaktionen mit jedem E.g.-Antigen dar.

9. Abkürzungen

Die Erklärung der international üblichen Abkürzungen von Termini technici und Institutionen erfolgt nur im Text.-
Der Übersicht halber werden speziell für die Arbeit ausgewählte Abkürzungen im folgenden noch einmal erläutert.-

Echinococcus granulosus-Antigene

BE	Behringwerke
BM	bio Mérieux
KA	Kamel/Ägypten
MK	Mensch/Kenia
PA	Institut Pasteur
PE	Pferd/England
RS	Rind/Schweiz
SA	Schaf/Argentinien
ST	Schaf/Türkei
VI	Institut Virion

Echinokokken-Spezies und -Infektionen sowie -Zystenflüssigkeit

E.g.	Echinococcus granulosus
E.m.	Echinococcus multilocularis
alv.E.	alveoläre Echinokokkose
zyst.E.	zystische Echinokokkose
ZF	Zystenflüssigkeit

Herkunftsländer der untersuchten Patienten u. Personen (Internat.Kfz-Zeichen)

D	Deutschland
ET	Ägypten
F	Frankreich
GR	Griechenland
IR	Iran
RL	Libanon
SYR	Syrien
TR	Türkei
YU	Jugoslawien

Verdünnungen der Reaktionspartner für den ELISA; Grenzwert; Referenzserum

A	optimale Antigenverdünnung
K	optimale Konjugatverdünnung
S	optimale Serumverdünnung
GW	Grenzwert
B	Echinokokkose-Referenzserum des Bundesgesundheitsamtes

10. Literaturverzeichnis

ABOU-DAOUD, K T (1965)

Comparison of the indirect hemagglutination, intradermal, and complement fixation tests in hydatid disease, and observations on the fertility of hydatid cysts in humans.
Am J Trop Med Hyg 14, 760-764

AIKAT, B K/ BHUSHNURMATH, S R/ CADERSA, M/ CCHUTTANI, P N/ MITRA, S K (1978)

Echinococcus multilocularis infection in India: first case report proved at autopsy.
Trans R Soc Trop Med Hyg 72, 619-621

ALEXANDER, M/ RAETTIG, H (1981)

Infektionskrankheiten, 2. Neubearb. Aufl.
Stuttgart, New York: Thieme

AMBROISE-THOMAS, P/ DESGEORGES, P T (1980)

Valeur diagnostique et limites du test ELISA applique a l'hydatidose.
Bull Soc Pathol Exot Filiales 73, 89-99

AMBROISE-THOMAS, P/ DESGEORGES, P T/ MONGET, D (1978)

Diagnostic immuno-enzymologique (ELISA) des maladies parasitaires par une micromethode modifiee.
2. Resultats pour la toxoplasmose, l'amibiase, la trichinose, l'hydatidose et l'aspergillose.
Bull WHO 56, 797-804

AMBROISE-THOMAS, P T/ KIEN TRUONG, T (1970)

L'immunofluorescence dans le diagnostic serologique et le controle post-operative de l'hydatidose humaine.- I. material et methodes.
Cah Med Lyon 46, 2955-2962

AVRAMIAS, S (1970)

Immunoenzyme techniques: enzymes as markers for the localization of antigens and antibodies.
Int Rev Cytol 27, 349-385

AZEVEDO, J F DE/ ROMBERT, P C (1964)

O diagnostico pela immuno-fluorescencia.
Sua aplicacao em parasitologia.
Rev Inst Med Trop Sao Paulo 6, 35-45

BAHR, R (1981)

Die Echinokokkose des Menschen.
Stuttgart: Enke

BEARD, T C (1973)

The elimination of echinococcosis from Iceland.
Bull WHO 48, 653-660

BEARD, T C (1979)

Hydatids in Australia - the present position in man.
Aust Vet J 55, 131-135

BEN-ISMAIL, R/ CARME, B/ NIEL, G/ GENTILINI, M (1980)

Non-specific serological reactions with Echinococcus
granulosus antigens: role of anti-P1 antibodies.
Am J Trop Med Hyg 29, 239-245

BENSTED, H J/ ATKINSON, J D (1958)

Hydatid complement-fixation test: influence of intermediate
host protein on specificity of sheep hydatid fluid antigen.
Br Med J, Heft 5090; 203-205

BEVAN, B/ HAMMOND, W/ CLARKE, R L (1970)

Anti-P1 associated with liver-fluke infection.
Vox Sang 18, 188-189

BIGUET, J/ D'HAUSSY, R/ CAPRON, A/ TRAN VAN KY, P/ AUBRY, M (1962)

Les antigenes de Onchocerca volvulus.
I. Etude immuno-electrophoretique preliminaire.
Bull Soc Pathol Exot Filiales 55, 845-855

BOUT, D/ DUGIMONT, J C/ FARAG, H/ CAPRON, A (1976)

Immunodiagnosis of human parasitic diseases by ELISA.
First International Symposium in Immunoenzymatic Techniques
INSERM, Symposium No. 2 North-Holland Publishing Company,
Amsterdam, 175-182

BOUT, D/ FRUIT, J/ CAPRON, A (1974)

Purification d'un antigene specifique de liquide hydatique.
Ann Immunol (Paris) 125, 775-788

BRISOU, J (1946)

Diagnostic du kystehydatique par extrait de tenia.
Bull Soc Pathol Exot Filiales (Paris) 39, 193-196

BRUNETTI, O A/ ROSEN, M N (1970)

Prevalence of *Echinococcus granulosus*
hydatid in California deer.
J Parasitol 56, 1138-1140

BURRIDGE, M J/ SCHWABE, C W/ FRASER J (1977)

Hydatid disease in New Zealand: changing patterns in human
infection, 1878 -1972.
NZ Med J 85, 173-177

BUTLER, J E/ FELDBUSH, T L/ MCGIVERN, P L/ STEWART, N (1978)

The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA):
a measure of antibody concentration of affinity ?
Immunochemistry 15, 131-136

CAMERON, T W M (1960)

The incidence and diagnosis of hydatid cyst in Canada.
Echinococcus granulosus var. *canadensis*.
Parasitologia 2, 381-390

CAMERON, G L/ STAVELEY, J M (1957)

Blood group P substance in hydatid cyst fluids.
Nature (London) 179, 147-148

CAPRON, A/ BIGUET, J/ VERNES, A/ AFCHAIN, D (1968)

Structure antigenique des helminthes.
Aspects immunologiques des relations hôte-parasite.
Pathol Biol 16, 121-138

CAPRON, A/ YARZABAL, L A/ VERNES, A/ FRUIT, J (1970)

Le diagnostic immunologique de l'échinococcose humaine
(Bilan personnel a propos de 400 observations).
Pathol Biol 18, 357-364

CASONI, T (1911)

La diagnosi biologica dell'echinococcosi
umana mediante l'intradermoreazione.
Folia Clin Chim Microsc 4, 5-16

COLTORTI, E A/ VARELA-DIAZ, V M (1972)

IgG levels and host specificity in hydatid cyst fluid.
J Parasitol 58, 753-756

COLTORTI, E A/ VARELA-DIAZ, V M (1974)

Echinococcus granulosus: Penetration of macromolecules
and their localization on the parasite membranes of cysts.
Exp Parasitol 35, 225-231

COLTORTI, E A/ VARELA-DIAZ, V M (1975 a)

Penetration of host IgG molecules into hydatid cysts.
Z Parasitenkd 48, 47-51

COLTORTI, E A/ VARELA-DIAZ, V M (1975 b)

Modification of the immunoelectrophoresis test
for the immunodiagnosis of hydatidosis.
J Parasitol 61, 155-157

COLTORTI, E A/ VARELA-DIAZ, V M (1976)

Survival of hydatid cysts after puncturing.
Ann Parasitol Hum Comp 51, 647-652

COONS, A H/ CREECH, H J/ JONES, R N (1941)

Immunological properties of an antibody
containing a fluorescent group.
Proc Soc Exp Biol Med 47, 200-202

COUNCIL FOR INTERNATIONAL ORGANIZATION OF MEDICAL SCIENCES (1974)

Übertragbare Krankheiten.
Vorläufige internationale Nomenklatur.
Deutschsprachiges Sekretariat des CIOMS, 6900 Heidelberg
Im Neuenheimer Feld 280
CIOMS-Projekt, Band 2, 161-162

CULBERTSON, J T/ ROSE, H M (1941)

Further observations on skin reactions to antigens
from heterologous cestodes in Echinococcus disease.
J Clin Invest 20, 249-254

D'ALESSANDRO, A/ RAUSCH, R L/ CUELLO, C/ ARISTIZABAL, N (1979)

Echinococcus vogeli in man, with a review of polycystic
hydatid disease in Colombia and neighbouring countries.
Am J Trop Med Hyg 28, 303-317

DAO, C/ ARNAUD, J-P/ PETITHORY, J/ BRUMPT, L (1973)

Apport de la technique de fluorescence indirecte au
diagnostic immunologique de la cysticerose humaine.
Ann Parasitol Hum Comp 48, 23-32

DE RYCKE, P H/ VAN GREMBERGEN, G (1971)

Echinococcus granulosus in cattle and swine.
In: 19. Congr Mund Med Vet Zootec, Mexico City; 1; 136-139

DIESING, K M (1863)

Revision der Cephalocotyleen. Abteilung: Paramecocotyleen.
Sitzungsber Kais Akad Wiss, Wien, Abt 1; 48, 200-345

DINNIK, J A/ SACHS, R (1969)

Cysticercosis, echinococcosis and
sparganosis in wild herbivores in East Africa.
Vet Med Rev 2, 104-114

DISKO, R/ BRAVENY, I (1979)

Echinokokkose.
Aktuelle Probleme der Diagnose und Verbreitung.
Med Klin 74, 1159-1163

DISSANAIKE, A S (1962)

Observations on Echinococcus infection in Ceylon.
In: First regional symposium on scientific knowledge of
tropical parasites, University of Singapore, 223-240

DOTTORINI, S/ SPARVOLI, M/ MERLETTI, L/ STAGNI, G (1983)

Hydatidosis: a first approach for
serological standardization.
Boll Ist Sieroter Milan 62, 535-539

- DOTTORINI, S/ TASSI, C/ BALDELLI, F (1981)**
E.L.I.S.A. (enzyme-linked immunosorbent assay)
for diagnosis of human hydatid disease.
Boll Ist Sieroter Milan 60, 137-143
- DREPLER, S/ HÄRING, R/ KLEMS, H (1969)**
Klinik und Therapie der Echinokokkose des Abdomens.
Zentralbl Chir 94, 772-781
- DURIE, P H/ RIEK, R F (1952)**
The role of the dingo and wallaby in the infestation
of cattle with hydatids (*Echinococcus granulosus*,
Batsch 1786/ Rudolphi 1801) in Queensland.
Aust Vet J 28, 249-254
- ECKERT, J (1981)**
Echinokokkose.
Berl Münch Tierärztl Wochenschr 94, 369-378
- ENGVAL, E/ PERLMANN, P (1971)**
Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).
Quantitative assay of immunoglobulin G.
Immunochemistry 8, 871-874
- ENGVAL, E/ PERLMANN, P (1972)**
Enzyme-linked immunosorbent assay, E.L.I.S.A.
III. Quantitation of specific antibodies by enzyme-labeled
anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes.
J Immunol 109, 129-135
- FAIRLEY, N H (1933)**
Diskussion zu W.P. Mac Arthur's Arbeit über
"Cysticercosis as seen in the British Army, with
special reference to the production of epilepsy".
Trans R Soc Trop Med Hyg 27, 361
- FARAG, H/ BOUT, D/ CAPRON, A (1975)**
Specific immunodiagnosis of human hydatidosis by
the enzyme-linked immunosorbent assay (E.L.I.S.A.).
Biomedicine (Paris) 23, 276-278

FELGNER, P (1978 a)

A new technique of heterogenous enzyme-linked immunosorbent assay, Stick-ELISA.

I. Description of the technique.

Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg Ser A 240, 112-117

FELGNER, P (1978 b)

A new technique of heterogenous enzyme-linked immunosorbent assay, Stick-ELISA.

II. Application of Stick-ELISA to antigens of various infective agents.

Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg Ser A 240, 118-122

FELGNER, P (1978 c)

Antibody activity in Stick-ELISA as compared to other quantitative immunological tests in sera of Echinococcosis cases.

Tropenmed Parasitol 29, 417-422

FISCHMAN, A (1960 a)

Flocculation tests in hydatid disease.

J Clin Pathol (Lond) 13, 72-75

FISCHMAN, A (1960 b)

A rapid latex test for hydatid disease.

NZ Med J 59, 485-487

FISCHMAN, A (1968)

A new whole-scolex complement-fixation test for hydatid disease.

Bull WHO 39, 39-43

GARABEDIAN, G A (1971)

Evaluation of the reactivity of hydatid whole-scolex antigen in hydatid disease serology.

Ann Trop Med Parasitol 65, 385-392

GEMMELL, M A (1961)

Hydatid disease in Australia.

Bull Off Int Epizoot C 614, 1009-1029

GEMMELL, M A (1968)

The Styx field-trial.

A study on the application of control measures against hydatid disease caused by *Echinococcus granulosus*.

Bull WHO 39, 73-100

GEMMELL, M A (1978)

Perspective on options for hydatidosis and cysticercosis control.

Vet Med Rev 1, 3-48

GENTILINI, M/ PINON, J M/ NIEL, G/ DANIS, M (1972)

Etude comparee des reactions de precipitation et d'immunofluorescence indirecte dans le diagnostic des filarioses.

Bull Soc Pathol Exot Filiales 65, 849-858

GILL, H S/ RAO, B V (1967)

On the biology and morphology of *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) of buffalo-dog origin.

Parasitology 57, 695-704

GIUNCHI, G/ SORICE, F/ PAULUZZI, S/ CASTAGNARI, F/ DE ROSA, F (1974)

Immunologic response to hydatid disease.

In: 3. Int Congr Parasitol, Munich; Proc 1; 568-569

GORE, R W/ SADUN, E H/ HOFF, R (1970)

Echinococcus granulosus and *E.multilocularis*: soluble antigen fluorescent antibody test.

Exp Parasitol 28, 272-279

GOTTSTEIN, B/ ECKERT, J/ FEY, H (1983)

Serological differentiation between *Echinococcus granulosus* and *E.multilocularis* infections in man.

Z Parasitenkd 69, 347-356

GRABER, M/ THAL, J (1980)

L'echinococcose des artiodactyles sauvages de la Republique Centrafricaine: existence probable d'un cycle lion-phacochere.

Rev Elev Med Vet Pays Trop 33, 51-59

GRAFE, H-H (1964)

Kritischer Beitrag zur Serodiagnostik der
Echinokokkose des Menschen.
Arch Hyg Bakt 148, 367-378

GUISANTES, J A/ RUBIO, M F/ DIAZ, R (1981)

Application of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)
method to the diagnosis of human hydatidosis.
Bull Pan Am Health Organ 15, 260-266

HATCH, C/ SHYTH, J D (1975)

Attempted infection of sheep with *Echinococcus granulosus equinus*.
Res Vet Sci 19, 340

HESS, U/ ECKERT, J/ FRÜHLICH, A (1974)

Vergleich serologischer Methoden für die Diagnose der zystischen
und alveolären Echinokokkose des Menschen.
Schweiz Med Wochenschr 104, 853-859

HINZ, E (1972)

FAT-Nachweis in Helminthologie und bei Echinokokkose.
Diagnostik 5, 580-582

HULDT, G/ JOHANSSON, S G O/ LANTTO, S (1973)

Echinococcosis in Northern Scandinavia.
Immune reactions to *Echinococcus granulosus* in Kautokeino Lapps.
Arch Environ Health 26, 36-40

HUTCHISON, W F (1968)

Serodiagnosis of *Echinococcus* infection.
Am J Trop Med Hyg 17, 752-755

IACONA, A/ PINI, C/ VICARI, G (1980)

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the
serodiagnosis of hydatid disease.
Am J Trop Med Hyg 22, 95-102

IMARI, A J (1962)

Pulmonary hydatid disease in Iraq.
Am J Trop Med Hyg 11, 481-490

JANITSCHKE, K/ EL-KALOUBY, A H/ BRAUN-MUNZINGER, R A/
EL-BAZ, H/ MAHMOUD, M (1981 a)

Evaluation of the ELISA test as an epidemiological
tool in schistosomiasis.

J Trop Med Hyg 84, 147-154

JANITSCHKE, K/ KARAVIAS, T/ WERNER, H/ ROZYCKI, C (1981 b)

Vergleich der Sensitivität und Spezifität verschiedener
serologischer Methoden zum Nachweis einer Echinokokkose.

Laboratoriumsmedizin 5, 274-277

JANITSCHKE, K/ WERNER, H/ BODE, L (1982)

Applicability of an automated ELISA for the
serological diagnosis of echinococcosis.

Zentralbl Bakteriell Mikrobiol Hyg, I.Abt Ref 277; 117

JIROVEC, O (1960)

Parasitologie für Ärzte.

Jena: Fischer

KAGAN, I G (1963)

Seminar on immunity to parasitic helminths.

VI. Hydatid disease.

Exp Parasitol 13, 57-71

KAGAN, I G (1968)

A review of serological tests for the
diagnosis of hydatid disease.

Bull WHO 39, 25-37

KAGAN, I G (1974)

Advances in the immunodiagnosis of parasitic infections.

Z Parasitenkd 45, 163-195

KAGAN, I G/ AGOSIN, M (1968)

Echinococcus antigens.

Bull WHO 39, 13-24

KAGAN, I G/ ALLAIN, D S/ NORMAN, L (1959)

An evaluation of the hemagglutination and flocculation
tests in the diagnosis of Echinococcus disease.

Am J Trop Med Hyg 8, 51-55

KAGAN, I G/ NORMAN, L (1961)

Antigenic analysis of Echinococcus antigens
by agar diffusion techniques.
Am J Trop Med Hyg 10, 727-734

KAGAN, I G/ NORMAN, L (1963 a)

The isolation and characterization of two host antigens
in hydatid fluid of Echinococcus granulosus.
Am J Trop Med Hyg 12, 346-357

KAGAN, I G/ NORMAN, L (1963 b)

Analysis of helminth antigens (Echinococcus granulosus
and Schistosoma mansoni) by agar gel methods.
Ann NY Acad Sci 113, 130-153

KAGAN, I G/ NORMAN, L/ ALLAIN, D S (1960 a)

Studies on echinococcosis: serology of crude and fractionated
antigens prepared from Echinococcus granulosus and Echinococcus
multilocularis.
Am J Trop Med Hyg 9, 248-261

KAGAN, I G/ NORMAN, L/ ALLAIN, D S/ GOODCHILD, G C (1960 b)

Studies on echinococcosis: nonspecific serologic reactions of
hydatid-fluid antigen with serum of patients ill with diseases
other than echinococcosis.
J Immunol 84, 635-640

KÜMMERLE, F (1957)

Zur Chirurgie des Echinococcus alveolaris multilocularis.
Chirurg 28, 515-518

KUMARATILAKE, L M/ THOMPSON, R C A (1979)

A standardised technique for the comparison of tapeworm soluble
proteins by thin-layer isoelectric focusing in polyacrylamide gels,
with particular reference to Echinococcus granulosus.
Sci Tools 26, 21-24

KUMARATILAKE, L M/ THOMPSON, R C A (1982)

A review of the taxonomy and speciation of the genus
Echinococcus Rudolphi 1801.
Z Parasitenkd 68, 121-146

KUMARATILAKE, L M/ THOMPSON, R C A/ DUNSMORE, J D (1979)

Intraspecific variation in Echinococcus: a biochemical approach.
Z Parasitenkd 60, 291-294

KUZNETSOV, M I/ GUMEN'SHCHIKOVA, V P/ SHUBADEROV, V YA (1980)

(Epizootiological, biological and morphological differences in hydatidosis in Uzbekistan and in the western regions of USSR.)

Vsesoyuznyi institut Gel'mintologii im. K.I. Skryabina, Moscow, USSR, 193-199 (Russian)

Abstr in: Helminthol Abstr Ser A 49, Ab No 5214; 503-504

KUZNETSOV, M I/ SHUBADEROV, V YA/ TIL'TIN, B P (1975)

(Biological, morphological and immunological features of Echinococcus granulosus from sheep and pigs in various regions of the USSR.)

In: Antropozoogel'mintozy i perspektivy ikh likvidatsii (Tezisy dokl. nauchn. Konf., Sarmakand-Taillyak, 16-18 Apr.1975).

Moscow, USSR; Vsesoyuznaya Akademiya Sel'skokhozyaistvennykh Nauk im. V.I. Lenina. (1975) 46-49 (Russian)

Abstr in: Helminthol Abstr Ser A 46 (1977) 2066

LANDSTEINER, K/ LEVINE, P (1927)

Further observations on individual differences of human blood.

Proc Soc Exp Biol Med 24, 941-942

LASCANO, E F/ COLTORTI, E A/ VARELA-DIAZ, V M (1975)

Fine structure of the germinal membrane of Echinococcus granulosus cysts.

J Parasitol 61, 853-860

LEIBY, P D/ CARNEY, W P/ WOODS, C E (1970)

Studies on sylvatic echinococcosis.

III. Host occurrence and geographic distribution of Echinococcus multilocularis in the north central United States.

J Parasitol 56, 1141-1150

LE RICHE, P D/ SEWELL, M M H (1978)

Identification of Echinococcus granulosus strains by enzyme electrophoresis.

Res Vet Sci 25, 247-248

LEVINE, P/ CBLANO, M/ STAVBLEY, J M (1958)

The antigenicity of P substance in Echinococcus cyst fluid coated on to tanned red cells.

Vox Sang 3, 434-438

LIGHTOWLERS, M W/ RICKARD, M D/ HONEY, R D/ OBENDORF, D L/
MITCHELL, G F (1984)

Serological diagnosis of *Echinococcus granulosus* infection
in sheep using cyst fluid antigen processed by antibody
affinity chromatography.

Aust Vet J 61, 101-108

LIU, I K M/ SCHWABE, C W/ SCHANTZ, P M/ ALLISON, M N (1970)

The occurrence of *Echinococcus granulosus* in coyotes (*Canis latrans*)
in the central valley of California.

J Parasitol 56, 1135-1137

MACCAS, M (1955)

El quiste hidatídico en Grecia.

Arch Int Hidatidosis (Montevideo, Uruguay) 14, 130-131

MACPHERSON, C N L/ MCMANUS, D P (1982)

A comparative study of *Echinococcus granulosus* from human
and animal hosts in Kenya using isoelectric focusing and
isoenzyme analysis.

Int J Parasitol 12, 515-521

MANN, I (1974)

The background and outline of the research programme
in echinococcosis (hydatidosis) in Kenya.

In: 3. Int Congr Parasitol, Munich; Proc 1; 547-550

MANNWEILER, E (1980)

Serologische Diagnostik der Echinokokkose.

Dtsch Med Wochenschr 26, 916

MANNWEILER, E (1982)

Die Immundiagnostik der Echinokokkose.

In: Probleme der Echinokokkose unter Berücksichtigung
parasitologischer und klinischer Aspekte/ hrsg von R.Bähr.
Bern, Stuttgart, Wien: Huber, 57

(Aktuelle Probleme in Chirurgie und Orthopädie. Bd 23)

MANNWEILER, E/ FELGNER, P/ LEDERER, I (1979)

Serum-Antikörper bei der zystischen und
alveolären Echinokokkose.

Dtsch Med Wochenschr 32, 1139-1142

MANNWEILER, E/ THÖLE, A/ LEDERER, I (1977)

Beiträge zur Immundiagnostik der Echinokokkose des Menschen.
Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg Ser A 238, 494-502

MATOSSIAN, R M/ RICKARD, M D/ SMYTH, J D (1977)

Hydatidosis: a global problem of increasing importance.
Bull WHO 55, 499-507

MCMANUS, D P (1981)

A biochemical study of adult and cystic stages of *Echinococcus granulosus* of human and animal origin from Kenya.
J Helminthol 55, 21-27

MCMANUS, D P/ SMYTH, J D (1978)

Differences in the chemical composition and carbohydrate metabolism of *Echinococcus granulosus* (horse and sheep strains) and *E. multilocularis*.
Parasitology 77, 103-109

MCMANUS, D P/ SMYTH, J D (1979)

Isoelectric focusing of some enzymes from *Echinococcus granulosus* (horse and sheep strains) and *E. multilocularis*.
Trans R Soc Trop Med Hyg 73, 259-265

MERRITT, M/ HARDY, J (1955)

Notes on a serum containing anti-P in high titre.
J Clin Pathol 8, 329-330

MEYNIEL, G/ PLAGNE, R (1966)

La scintigraphie hépatique.
Bull Cancer (Paris) 53, 59-102

MINNING, W (1952)

Echinokokkose.
In: Bergmann, G von/ Frey, W/ Schwiegk, H (Hrsg):
Handbuch der Inneren Medizin, 1. Bd, Teil 2, 4. Aufl;
Berlin, Göttingen: Springer, 953-970

MOBEDI, I/ SADIGHIAN, A (1971)

Echinococcus multilocularis Leuckart, 1863, in red foxes,
Vulpes vulpes Linn., in Moghan, Azerbaijan Province,
northwest of Iran.
J Parasitol 57, 493

MUSIANI, P/ PIANTELLI, M/ ARRU, E/ POZZUOLI, R(1974)

A solid phase radioimmunoassay for the diagnosis of human hydatidosis.

J Immunol 112, 1674-1679

NIEL, G/ GENTILINI, M/ COUTURE, J/ PINON, J-M/ DANIS, M (1972)

Application des extraits antigeniques d'*Ascaris suum* au diagnostic des filarioses en double diffusion.

Valeur comparee a celle des antigenes *Onchocerca volvulus* et *Dipetalonema viteae*.

Bull Soc Pathol Exot Filiales 65, 569-580

NORMAN, L/ KAGAN, I G (1966)

Preparation and evaluation of antigens for use in the serologic diagnosis of human hydatid disease.

I. Identification and partial purification of the reactive elements in *Echinococcus granulosus* antigen prepared from sheep hydatid fluid.

J Immunol 96, 814-821

NORMAN, L/ KAGAN, I G/ ALLAIN, D S (1966)

Preparation and evaluation of antigens for use in the serologic diagnosis of human hydatid disease.

II. Isolation and characterization from extracts of cysts of *Echinococcus multilocularis* of serologically reactive elements found in hydatid fluid of *Echinococcus granulosus*.

J Immunol 96, 822-828

NORMAN, L/ KAGAN, I G/ CHORDI, A (1964)

Further studies on the analysis of sheep hydatid fluid by agar gel methods.

Am J Trop Med Hyg 13, 816-821

NORMAN, L/ SADUN, E H/ ALLAIN, D S (1959)

A bentonite flocculation test for the diagnosis of hydatid disease in man and animals.

Am J Trop Med Hyg 8, 46-50

NORRIS, T J (1965)

Blood group P1: serological diagnosis of echinococcosis and carcinoma.

Med J Aust 1, 792-794

ORTLEPP, R J (1937)

South African helminths.- Part I.

Onderstepoort J Vet Sci Anim Ind 9, 311-336

OWOR, R/ BITAKARAHIRE, P K (1975)

Hydatid disease in Uganda.
East Afr Med J 52, 700-704

PANDEY, V S (1972)

Observations on the morphology and biology of *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) of goat-dog origin.
J Helminthol 46, 219-233

PARAMANANTHAN, D C (1961)

Some observations on brood capsules of hydatid cysts from local animals.
Ceylon J Med Sci 10, 57-59

PARAMANANTHAN, D C/ DISSANAIKE, A S (1961)

Sylvatic hydatid infection in Ceylon.
Trans R Soc Trop Med Hyg 55, 483

PIEKARSKI, G (1954)

Lehrbuch der Parasitologie unter besonderer Berücksichtigung der Parasiten des Menschen.
Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer

PINON, J M/ SULAHIAN, A/ REMY, G/ DROPSY, G (1979)

Immunological study of hydatidosis.
Am J Trop Med Hyg 28, 318-324

PREIß, H/ LÜBKE, R (1978)

Beitrag zur Kasuistik des *Echinococcus granulosus* beim Hund.
Kleintier-Prax 23, 345-350

PROKOP, O/ OEBSTERLE, P (1958)

Zur Frage der P-Antigenität von Echinokokkenflüssigkeit aus Schweinelebern.
Blut 4, 157-158

PROKOP, O/ SCHLESINGER, D (1965)

Über das Vorkommen von P1-Blutgruppensubstanz bei einigen Metazoen, insbesondere *Ascaris suum* und *Lumbricus terrestris*.
Z Immunitätsforsch 6, 344-353

RACE, R R/ SANGER, R (1970)

Les groupes sanguins P.

In: Race, R R und Sanger, R (Hrsg)

Les groupes sanguins de l'homme.

Paris: Masson, 136-162

RAO, B V (1968)

Experimental transmission of *Echinococcus* of buffalo origin to foxes (*Vulpes bengalensis*).

Vet Rec 83, 56-57

RAUSCH, R L (1960)

Recent studies on hydatid disease in Alaska.

Parassitologia 2, 391-398

RAUSCH, R L (1967 a)

On the ecology and distribution of *Echinococcus* spp. (cestoda: taeniidae) and characteristics of their development in the intermediate host.

Ann Parasitol Hum Comp 42, 19-63

RAUSCH, R L (1967 b)

A consideration of intraspecific categories in the genus *Echinococcus* Rudolphi, 1801 (cestoda: taeniidae).

J Parasitol 53, 484-491

RAUSCH, R L/ BERNSTEIN, J J (1972)

Echinococcus vogeli sp. n. (cestoda: taeniidae)

from the bush dog, *Speothos venaticus* (Lund).

Tropenmed Parasitol 23, 25-34

RAUSCH, R L/ RAUSCH, V R/ D'ALESSANDRO, A (1978)

Discrimination of the larval stages of *Echinococcus oligarthrus* (Diesing, 1863) and *E. vogeli* Rausch and Bernstein, 1972 (cestoda: taeniidae).

Am J Trop Med Hyg 27, 1195-1202

ROHANO, M N/ BRUNETTI, O A/ SCHWABE, C W/ ROSEN, M N (1974)

Probable transmission of *Echinococcus granulosus* between deer and coyotes in California.

J Wildl Dis 10, 225-227

RONEUS, O (1974)

Prevalence of echinococcosis in reindeer
(*Rangifer tardus*) in Sweden.
Acta Vet Scand 15, 170-178

ROY, S/ BISWAS, S K/ CHATTERJEE, B P/ MALLIK, K C B (1970)

Comparative evaluation of tests in the
diagnosis of pulmonary hydatid cysts.
Trans R Soc Trop Med Hyg 64, 711-716

RUITENBERG, E J/ VAN DER SLEEN, G (1972)

A modified immunofluorescence test for echinococcosis.
J Parasitol 58, 347

RUSSI, S/ SIRACUSANO, A/ VICARI, G (1974)

Isolation and characterization of a blood P1 active carbo-
hydrate antigen of *Echinococcus granulosus* cyst membrane.
J Immunol 112, 1061-1069

RYDZEWSKI, A K/ CHISHOLM, E S/ KAGAN, I G (1975)

Comparison of serologic tests for human cysticercosis by
indirect hemagglutination, indirect immunofluorescent
antibody, and agar gel precipitin tests.
J Parasitol 61, 154-155

SACHS, R/ SACHS, C (1968)

A survey of parasitic infestation of wild herbivores in the
Serengeti region in northern Tanzania and the Lake Rukwa
region in southern Tanzania.
Bull Epizoot Dis Afr 16, 455-472

SCHANTZ, P M/ COLLI, C (1973)

Echinococcus oligantrhus (Diesing 1863) from Geoffroy's cats
(*Felis geoffroyi* D'Orbigny y Gervais) in temperate South America.
J Parasitol 59, 1138-1140

SCHANTZ, P M/ CRUZ-REYES, A/ COLLI, C/ LORD, R D (1975)

Sylvatic echinococcosis in Argentina.
I. On the morphology and biology of strobilar *Echinococcus*
granulosus (Batsch, 1786) from domestic and sylvatic animal hosts.
Tropenmed Parasitol 26, 334-344

SCHANTZ, P M/ LORD, R D/ ZAVALSTA, O (1972)

Echinococcus in the South American red fox (*Dusicyon culpaus*) and the European hare (*Lepus europaeus*) in the province of Neuquen, Argentina.

Ann Trop Med Parasitol 66, 479-485

SCHANTZ, P M/ SCHWABE, C (1969)

Worldwide status of hydatid disease control.

J Am Vet Med Assoc 155, 2104-2121

SCHANTZ, P M/ SHANKS, D/ WILSON, M (1980)

Serologic cross-reactions with sera from patients with echinococcosis and cysticercosis.

Am J Trop Med Hyg 29, 609-612

SCHICKER, H J (1976)

Die Echinokokkose des Menschen.

Stand von Diagnose, Therapie und Prognose bei Echinokokkenerkrankungen in Baden-Württemberg in den Jahren 1960 bis 1972.

Tübingen, Univ, Med Fak, Diss

SCHULZE, K/ HÜBENER, K-H/ KLOTT, K/ JENSS, H/ BAHR, R (1980)

Computertomographische und sonographische Diagnostik der Echinokokkose.

ROFO 132, 514-521

SCHWABE, C W (1959)

Host-parasite relationships in Echinococcosis.

I. Observations on the permeability of the hydatid cyst wall.

Am J Trop Med Hyg 8, 20-28

SLAIS, J/ MADLE, A/ VANKA, K/ JELINEK, F/ CERNIK, V/ PRUCHOVA, M/ JINDRA, J (1979)

Alveolární hydatidoza (echinokokoza) diagnostikovaná punkční jaterní biopsií.

Cas Lek Cesk 118, 472-475

SMYTH, J D (1977)

Strain differences in *Echinococcus granulosus*, with special reference to the status of equine hydatidosis in the United Kingdom.

Trans R Soc Trop Med Hyg 71, 93-100

SMYTH, J D (1979)

An in vitro approach to taxonomic problems in trematodes
and cestodes, especially *Echinococcus*.
Symp Br Soc Parasitol 17, 75-101

SMYTH, J D/ DAVIES, Z (1974)

Occurrence of physiological strains of *Echinococcus granulosus*
demonstrated by in vitro culture of protoscoleces from sheep
and horse hydatid cysts.
Int J Parasitol 4, 443-445

SMYTH, J D/ SMYTH, M M (1968)

Some aspects of host specificity in *Echinococcus granulosus*.
Helminthologia (Bratisl) 9, 519-529

SMYTH, J D/ SMYTH, M M (1969)

Self insemination in *Echinococcus granulosus* in vivo.
J Helminthol 43, 383-387

SORICE, F/ CASTAGNARI, L/ TOLU, A (1966)

La diagnosi biologica dell'idatidiosi umana.
G Mal Infett Parassitarie 18, 192-228

SORICE, F/ DELIA, S/ CASTAGNARI, L (1977)

Il test E.L.I.S.A. nella immunodiagnosi dell'idatidiosi umana.
Boll Ist Sieroter Milan 56, 152-156

SPEISER, F (1980)

Application of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)
for the diagnosis of filariasis and echinococcosis.
Tropenmed Parasitol 31, 459-466

STOIMENOV, K/ KALOYANOV, Z H (1980)

Biological differences between *Echinococcus granulosus*
obtained from sheep and pigs.
Helminthol Abstr 49, Ab No 5394

SZIDAT, L (1963)

Studien über den Erreger der alveolären Echinococcenkrankheit
des Menschen in Südamerika.
Z Parasitenkd 23, 80-91

- TASSI, C/ DOTTORINI, S/ SCALISE, G/ GERANIO, N (1981)
Echinococcus granulosus: diagnosis of human hydatid disease
by the indirect haemoagglutination reaction with antigens
from hydatid fluid and scoleces.
Int J Parasitol 11, 85-88
- THEODOROPOULOS, G/ KOLITSOPOULOS, A/ ARCHIMANDRITIS, A/
MELISSINOS, K (1978)
Echinococcose alveolaire hepatique. Trois observations en Grece.
Nouv Presse Med 7, 3056
- THOMPSON, R C A (1976)
The Mongolian gerbil (Meriones unguiculatus) as a laboratory
host for the cystic stage of Echinococcus granulosus of
British horse origin.
Int J Parasitol 6, 505-511
- THOMPSON, R C A (1977 a)
Growth, segmentation and maturation of the British horse
and sheep strains of Echinococcus granulosus in dogs.
Int J Parasitol 7, 281-285
- THOMPSON, R C A (1977 b)
Hydatidosis in Great Britain.
Helminthol Abstr 46, 837-861
- THOMPSON, R C A (1978)
Aspects of speciation in Echinococcus granulosus.
Vet Parasitol 4, 121-125
- THOMPSON, R C A (1979)
Biology and speciation of Echinococcus granulosus.
Aust Vet J 55, 93-98
- THOMPSON, R C A/ KUMARATILAKE, L M (1982)
Intraspecific variation in Echinococcus granulosus:
the Australian situation and perspectives for the future.
Trans R Soc Trop Med Hyg 76, 13-16

- THOMPSON, R C A/ SMYTH, J D (1975)
Equine hydatidosis: a review of the current status in
Great Britain and the results of an epidemiological survey.
Vet Parasitol 1, 107-127
- TODOROFF, T/ DIMITROFF, A/ CHRISTOFF, L (1976)
Immunantwort bei der Kinderechinokokkose.
Med Monatsschr 30, 59-63
- TODOROV, T/ JELEVA, R (1979)
Nachweis präzipitierender Antikörper bei der Echinokokkose
mit der Gegenstrom-Immunelektrophorese.
Tropenmed Parasitol 30, 182-188
- TODOROV, T/ RAICEV, I/ TENEV, S/ KOSTURKOVA, M/ DAKOV, I/
DIMITROV, A (1979)
Immunoreactivity in pulmonary echinococcosis.
2. Evaluation of antibody response.
Bull WHO 57, 741-750
- VARELA-DIAZ, V M/ COLTORTI, E A (1973)
The presence of host immunoglobulins in hydatid cyst
membranes.
J Parasitol 59, 484-488
- VARELA-DIAZ, V M/ COLTORTI, E A/ PREZIOSO, U/ LOPEZ-LEMES, M H/
GUISANTES, J A/ YARZABAL, L A (1975 a)
Evaluation of three immunodiagnostic tests for
human hydatid disease.
Am J Trop Med Hyg 24, 312-319
- VARELA-DIAZ, V M/ ECKERT, J/ RAUSCH, R L/ COLTORTI, E A/
HESS, U (1977)
Detection of the Echinococcus granulosus diagnostic arc 5
in sera from patients with surgically-confirmed
E. multilocularis infection.
Z Parasitenkd 53, 183-188
- VARELA-DIAZ, V M/ LOPEZ-LEMES, M H/ PREZIOSO, U/ COLTORTI, E A/
YARZABAL, L A (1975 b)
Evaluation of four variants of the indirect hemagglutination
test for human hydatidosis.
Am J Trop Med Hyg 24, 304-311

VERSTER, A (1962)

Hydatidosis in the Republic of South Africa.
S Afr J Sci 58, 71-74

VERSTER, A (1965)

Review of Echinococcus species in South Africa.
Onderstepoort J Vet Res 32, 7-118

VOGEL, H (1957)

Über den Echinococcus multilocularis Süddeutschlands.
I. Das Bandwurmstadium von Stämmen menschlicher und
tierischer Herkunft.
Tropenmed Parasitol 8, 404-454

VOGEL, H (1978)

Wie wächst der Alveolar-Echinokokkus ?
Tropenmed Parasitol 29, 1-11

VOGEL, H/ SCHUMACHER, H H (1957)

Beobachtungen über alveoläre Echinokokken des
Zentralnervensystems bei Versuchstieren.
Tropenmed Parasitol 8, 278-287

VOLLER, A/ BARTLETT, A/ BIDWELL, D E (1976)

Enzyme immunoassays for parasitic diseases.
Trans R Soc Trop Med Hyg 70, 98-106

WELLER, T H/ COONS, A H (1954)

Fluorescent antibody studies with agents of
Varicella and Herpes zoster propagated in vitro.
Proc Soc Exp Biol Med 86, 789-794

WIDE, L/ BENNICH, H/ JOHANSSON, S G O (1967)

Diagnosis of allergy by an in-vitro test for allergen
antibodies.
Lancet 2, 1105-1107

WILLIAMS, J F/ ADAROS, H L/ TREJOS, A (1971)

Current prevalence and distribution of hydatidosis with special reference to the Americas.

Am J Trop Med Hyg 20, 224-236

WILLIAMS, J F/ PREZIOSO, U (1970)

Latex agglutination test for hydatid disease using Boerner slides.

J Parasitol 56, 1253-1255

WILLIAMS, R J/ SWEATMAN, G K (1963)

On the transmission, biology and morphology of *Echinococcus granulosus equinus*, a new subspecies of hydatid tapeworm in horses in Great Britain.

Parasitology 53, 391-407

WINKLE, S (1979)

Mikrobiologische und serologische Diagnostik mit Berücksichtigung der Pathogenese und Epidemiologie. 3. vollst. neubearb. Aufl.

Stuttgart, New York: Fischer

WORLD HEALTH ORGANIZATION (1968)

Research needs in echinococcosis (hydatidosis).

Bull WHO 39, 101-113

WORLD HEALTH ORGANIZATION (1979)

Parasitic zoonoses. Report of a WHO expert committee with the participation of FAO.

WHO Tech Rep Ser No 637; 50-59

WORLD HEALTH ORGANIZATION (1980)

FAO/ UNEP/ WHO guidelines on echinococcosis/ hydatidosis surveillance, prevention and control.

WHO (Geneva)

YARZABAL, L A (1970)

Immunological diagnosis of hydatidosis with special reference to the immunoelectrophoresis.

In: 2. Int Congr Parasitol, Washington, Sept 1970;

Proc, Part 1; No 688;

(J Parasitol 56, 374)

- YARZABAL, L A/ BOUT, D T/ NAQUIRA, F R/ CAPRON, A R (1977)
Further observations on the specificity of antigen 5
of *Echinococcus granulosus*.
J Parasitol 63, 495-499
- YARZABAL, L A/ LEITON, J/ LOPEZ-LEMES, M H (1974)
The diagnosis of human pulmonary hydatidosis by the
immunoelectrophoresis test.
Am J Trop Med Hyg 23, 662-666
- YONG, W K/ HEATH, D D (1979)
"Arc 5" antibodies in sera of sheep infected with
Echinococcus granulosus, *Taenia hydatigena* and *Taenia ovis*.
Parasite Immunol (Oxf) 1, 27-38
- YONG, W K/ HEATH, D D/ SAVAGE, T (1979)
Possible antigenic similarity between pulmonary
carcinoma and cysts of *Echinococcus granulosus*.
Br Med J 1, 1463-1464
- YOUNG, E (1975)
Some important parasitic and other diseases of lion,
Panthera leo, in the Kruger National Park.
J S Afr Vet Ass 46, 181-183
- ZAHNER, H/ FAILING, K/ KRAUSS, H/ ARENS, M/ HAMMES, H (1981)
Ein Beitrag zur stufenlosen Antikörperbestimmung mit dem
"Enzyme Linked Immunosorbent Assay" (ELISA).
Immun Infekt 9, 33-39
- ZEN'KOV, A V (1975)
Some biological differences of *Echinococcus granulosus*
from pigs and sheep.
Helminthol Abstr 44, Ab No 474
- ZEYHLE, E/ ROMIG, T/ MACPHERSON, C N L (1984)
Echinococcus granulosus in the Turkana area,
Northwest Kenya.
Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg Ser A 258, 407-408
- ZORIKHINA, V J (1970)
Improvement for methods of immunodiagnosis of human
echinococcosis and hydatid disease.
Med Parazitol (Mosk) 39, 170-179

Die Abkürzungen der Zeitschriften im Literaturverzeichnis erfolgte gemäß:

1. LIST OF JOURNALS INDEXED IN INDEX MEDICUS.
Bethesda, Md.: Nat. Library of Med. 1983.
2. BIOSIS. VOLUME 1984.
Philadelphia, Pa.: BIOSIS 1985.

Herrn Dr. Klaus Janitschke, Direktor und Professor am Bundesgesundheitsamt, danke ich herzlich für die Überlassung des Themas, die Einführung in die erforderliche Labortechnik und die stete Betreuung bei der Durchführung der Untersuchungen. Beim Abfassen der Arbeit erwiesen sich seine Ratschläge als besonders wertvolle Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. Franz Hörchner gebührt mein Dank für den stets freundlich gewährten kritischen Rat bei der Bearbeitung des Themas.

Frau Dr. Gisela Arndt danke ich besonders für ihre Hilfe bei der graphischen Auswertung der umfangreichen Daten.

LEBENS LAUF

- 1955 In Berlin geboren
- 1962 - 1966 Grundschule in Berlin-Charlottenburg
- 1966 - 1975 Besuch des Canisius-Kollegs, eines humanistischen
Gymnasiums in Berlin-Tiergarten
- Juni 1975 Abitur am Canisius-Kolleg
- Herbst 1975 Aufnahme des Studiums der Veterinärmedizin an der
Freien Universität Berlin
- Finanzierung des Studiums neben Waisenunterstützung durch
studienbegleitende Tätigkeiten in Berlin:
- 1978 - 1981 Krankenpflege im
Martin-Luther-Krankenhaus
- 1981 - 1984 Angestellter in der Tätigkeit eines
medizinisch-technischen Assistenten am
Krankenhaus Zehlendorf
- 1982 Staatsexamen und Approbation als Tierarzt in Berlin
- 1982 - 1983 Freier Mitarbeiter im Institut für Virologie des
Fachbereiches Veterinärmedizin der
Freien Universität Berlin
- 1983 - 1984 Freier Mitarbeiter in der Arbeitsgruppe
Klinische und Experimentelle Plasmaproteinforschung des
Universitätsklinikums Berlin-Charlottenburg
- Seit 1.3.84 Wissenschaftlicher Mitarbeiter im
Institut für Veterinär-Anatomie, -Histologie
und -Embryologie (WE 1) des
Fachbereiches Veterinärmedizin der
Freien Universität Berlin

